



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102210376 B

(45) 授权公告日 2014. 12. 31

(21) 申请号 201110079246. 9

(22) 申请日 2004. 03. 10

(30) 优先权数据

60/453, 442 2003. 03. 10 US

(62) 分案原申请数据

200480011192. 0 2004. 03. 10

(73) 专利权人 波伊特研究股份有限公司

地址 美国南达科他

(72) 发明人 S·M·刘易斯

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 罗菊华

(51) Int. Cl.

A23K 1/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

张子仪. 脱水酒精糟的营养特性. 《中国饲料学》. 中国农业出版社, 2000, (第1版),

审查员 王克伟

权利要求书1页 说明书34页 附图21页

(54) 发明名称

利用生淀粉生产乙醇的方法

(57) 摘要

本发明涉及在植物材料发酵期间产生高水平乙醇的方法以及涉及生产的高乙醇发酵醪。本发明还涉及从植物材料的发酵中生产高蛋白干酒糟的方法以及涉及生产的高蛋白干酒糟。本发明进一步涉及减少干燥乙醇生产中蒸馏产物而产生的烟囱排放。

1. 包含 34 ~ 45wt%蛋白质的干酒糟,其通过以下方法生产,该方法包括:
  - (a) 研磨玉米,使得磨碎的玉米的 35%或以上大小合适通过具有 0.1 ~ 0.5mm 筛孔的筛子,以生产包括淀粉的磨碎的玉米;
  - (b) 用酸稳定的真菌  $\alpha$  淀粉酶和葡糖淀粉酶,在 25°C ~ 40°C温度下、在 6 或更低的 pH 下不经蒸煮而从淀粉产生糖类;
  - (c) 发酵该未经蒸煮的糖类以生产包括乙醇的组合物;以及
  - (d) 从发酵物中回收干酒糟。
2. 权利要求 1 的干酒糟,其包含 13 ~ 17wt%脂肪。
3. 权利要求 2 的干酒糟,其包含 15wt%或更多脂肪。
4. 权利要求 1 的干酒糟,其包含 23 ~ 37wt%纤维。
5. 权利要求 4 的干酒糟,其包含 31wt%或更多纤维。
6. 权利要求 1 的干酒糟,其包含 1 ~ 23wt%淀粉。
7. 权利要求 6 的干酒糟,其包含 12wt%或更多淀粉。
8. 包含 34 ~ 45wt%蛋白质、13 ~ 17wt%脂肪、23 ~ 37wt%纤维和 1 ~ 23wt%淀粉的干酒糟,其通过以下方法生产,该方法包括:
  - (a) 研磨玉米,使得磨碎的玉米的 35%或以上大小合适通过具有 0.1 ~ 0.5mm 筛孔的筛子,以生产包括淀粉的磨碎的玉米;
  - (b) 用酸稳定的真菌  $\alpha$  淀粉酶和葡糖淀粉酶,在 25°C ~ 40°C温度下、在 6 或更低的 pH 下不经蒸煮而从淀粉产生糖类;
  - (c) 发酵该未经蒸煮的糖类以生产包括乙醇的组合物;以及
  - (d) 从发酵物中回收干酒糟。
9. 权利要求 1 或 8 的干酒糟,其中所述蛋白包含玉米醇溶蛋白。
10. 权利要求 1 或 8 的干酒糟,其包含维生素 B、维生素 C、维生素 E、叶酸和 / 或维生素 A。
11. 包含权利要求 1 或 8 的干酒糟的动物饲料。
12. 权利要求 1 或 8 的干酒糟作为动物饲料的用途。

## 利用生淀粉生产乙醇的方法

[0001] 本申请是申请日为 2005 年 10 月 25 日、申请号为 200480011192.0、发明名称“利用生淀粉生产乙醇的方法”的发明专利申请的分案申请。

### 发明领域

[0002] 本发明涉及在植物材料发酵期间生产高水平乙醇的方法以及涉及生产的高乙醇发酵醪 (beer)。本发明还涉及从植物材料的发酵中生产高蛋白干酒糟 (Distillers Dried Grain) 的方法;以及涉及生产的高蛋白干酒糟。本发明进一步涉及减少乙醇生产中由干燥蒸馏产物产生的烟囱排放 (stack emissions)。

### [0003] 发明背景

[0004] 已有用于将植物材料转化为乙醇的许多常规方法。然而这些方法遭受多种低效的制约。仍然需要有将植物材料转化为乙醇以及用于生产改良的发酵产品的另外的更有效的方法。

### [0005] 发明概述

[0006] 本发明涉及在植物材料发酵期间产生高水平乙醇的方法以及涉及生产的高乙醇发酵醪。本发明还涉及从植物材料的发酵中生产高蛋白干酒糟的方法,以及涉及生产的高蛋白干酒糟。

[0007] 在一个实施方案中,本发明涉及从植物材料生产乙醇的方法。该方法包括研磨植物材料以产生包括淀粉的磨碎的植物材料;不经蒸煮而糖化该淀粉;发酵该孵育的淀粉;以及从发酵物中回收乙醇。本发明方法可以包括在发酵期间改变温度。本发明方法可以包括使用一定颗粒大小的植物材料,从而使得超过 50% 的材料大小合适通过具有 0.5mm 网孔的筛子。本发明方法可生产包括至少 18% 体积乙醇的组合物。

[0008] 在一个实施方案中,本发明涉及从植物材料生产高蛋白干酒糟的方法。该方法包括研磨植物材料以生产包括淀粉的磨碎的植物材料;不经蒸煮而从淀粉产生糖类;发酵该未经蒸煮的糖类以生产包括乙醇的组合物;以及从发酵物中回收干酒糟。干酒糟可以包括至少约 30% 的蛋白质。干酒糟可以包括增高水平的玉米醇溶蛋白。

[0009] 在一个实施方案中,本发明涉及从玉米中生产乙醇的方法。该方法包括从玉米中生产淀粉以及从淀粉中生产乙醇;产生比常规技术含有明显更低水平的挥发性有机物的更干燥的烟囱排放。

### [0010] 附图简述

[0011] 图 1A-E 图解说明了本发明方法的产率与常规方法的比较。

[0012] 图 2A-2C 图解说明了在本发明方法中葡糖淀粉酶和酸性真菌淀粉酶的剂量效应。

[0013] 图 3A-3D 图解说明了在本发明方法中粉碎度 (grind size) 和酶剂量对发酵效率的作用。

[0014] 图 4A-4C 图解说明了在本发明方法中粉碎粒度 (grind particle size)、葡糖淀粉酶类型和酸性真菌淀粉酶剂量对发酵效率的作用。

[0015] 图 5A-5J 图解说明了在本发明方法中初始干固形物和温度对发酵性能的作用。

[0016] 图 6A 和 6B 图解说明了利用同时糖化和发酵 (SSF) 的分批或连续作业模式由本发明方法产生高水平乙醇。

[0017] 图 7 图解说明了在 SSF 分批作业期间本发明方法维持低水平的甘油。

[0018] 图 8 图解说明了在 SSF 分批作业期间本发明方法维持低水平的杂醇油。

[0019] 图 9A 和 9B 图解说明了在 SSF 分批或连续发酵模式作业期间本发明方法维持低水平的葡萄糖。

[0020] 图 10A 和 10B 图解说明了在 SSF 分批或连续发酵模式作业期间本发明方法维持低水平的麦芽糖。

[0021] 图 11A 和 11B 图解说明了在 SSF 分批或连续发酵模式作业期间本发明方法维持低水平的麦芽三糖 (DP3)。图 12A 和 12B 图解说明了在 SSF 分批或连续发酵模式作业期间本发明方法维持低水平的糊精 (DP4+)。

[0022] 图 13 图解说明了基于结块趋势本发明方法正面影响 DDGS 的质量。

[0023] 图 14A 和 14B 图解说明了在乙醇生产的离心步骤期间与近似分离 (proximate separation) 相关的本发明方法的物料平衡 (mass balance)。

[0024] 图 15A-D 图解说明了本发明方法提供了有利的非传统原料发酵。

[0025] 图 16A-C 图解说明了本发明的方法能以连续作业模式稳定运行而没有因产酸细菌污染物造成的显著损耗。

[0026] 图 17 图解说明了本发明方法能在连续模式作业中实现低残留的淀粉水平。

[0027] 发明详述

[0028] 定义

[0029] 如此处使用的, 短语“不经蒸煮”指利用  $\alpha$ -淀粉酶将淀粉转化为乙醇而不用使淀粉糊化和糊精化的热处理的方法。通常, 对于本发明的方法, “不经蒸煮”指维持温度在淀粉糊化温度以下, 从而由天然不溶性生淀粉向可溶性葡萄糖直接发生糖化作用而绕过通常的淀粉糊化条件。根据淀粉来源和聚合物类型, 淀粉糊化温度一般在 57°C 至 93°C 范围内。在本发明的方法中, 谷物中碳水化合物的有效发酵不需要利用常规液化技术进行淀粉糊精化。

[0030] 如此处使用的, 短语“植物材料”指任何植物的全部或一部分 (例如, 谷物谷粒), 一般为包含淀粉的材料。合适的植物材料包括谷类如玉蜀黍 (玉米, 例如全部磨碎的玉米)、高粱 (西非高粱 (milo))、大麦、小麦、黑麦、稻和黍; 以及富含淀粉的块根作物、块茎或根如甘薯和木薯。植物材料可以是上述材料的混合物以及上述材料的副产物, 例如, 玉米纤维、玉米穗轴、秸秆或其他包含纤维素和半纤维素的材料如木材或植物残余物。合适的植物材料包括玉米, 或标准玉米或蜡质种玉米。

[0031] 如此处使用的, 术语“糖化作用”和“糖化”指将淀粉转化为较小的多糖且最终转化为单糖, 如葡萄糖的过程。传统的糖化通过液化糊化淀粉来生产可溶的糊精化底物, 该底物被葡萄糖淀粉酶水解为葡萄糖。本发明方法中, 糖化作用指用酶, 例如葡糖淀粉酶和酸性真菌淀粉酶 (AFAU) 将生淀粉转化为葡萄糖。按照本发明方法, 生淀粉不经过常规的液化和糊化而产生常规的糊精化底物。

[0032] 如此处使用的, 酸性真菌淀粉酶 (AFAU) 活性单位指测定酸性真菌淀粉酶活性的标准 Novozymes 单位。该 Novozymes 单位在 Novozymes technical bulletin SOP No. :

EB-SM-0259.02/01 中描述。上述单位可通过碘滴定检测淀粉降解的产物而测定。1 单位定义为在标准条件下每小时降解 5.260mg 淀粉干物质的酶量。

[0033] 如此处使用的,葡糖淀粉酶(GAU)活性单位指用于测定葡糖淀粉酶活性的标准 Novozymes 单位。用于测定葡糖淀粉酶活性的 Novozymes 单位和测定法在公众可得的 Novozymes technical bulletin 中描述。

[0034] 如此处使用的,淀粉葡萄糖苷酶(AGU)活性单位指用于测定淀粉葡萄糖苷酶活性的标准 Novozymes 单位。该 Novozymes 单位在 Novozymes technical bulletin SOP No. : EB-SM-0131.02/01 中描述。上述单位可通过检测麦芽糖向葡萄糖的转化而测定。可利用葡糖脱氢酶反应测定葡萄糖。1 单位定义为在给定条件下每分钟催化 1mmol 麦芽糖转化的酶量。

[0035] 如此处使用的,修饰任何量的术语“大约”指在生产糖和乙醇的实际条件中,例如在实验室、试验工场或生产设备中所遇到的量的改变。例如,混合物中所用组分的量经“大约”进行修饰时包括一般在乙醇生产工厂或实验室中测量时的偏差和注意程度。例如,产物中组分的量以“大约”进行修饰时包括乙醇生产工厂或实验室中批次间的偏差以及分析法内在的偏差。不管是否以“大约”修饰,所述量包括那些量的等同物。此处所述的经“大约”修饰的任何量也可以作为未经“大约”修饰的量而用于本发明中。

#### [0036] 将淀粉转化为乙醇

[0037] 本发明涉及在植物材料发酵期间产生高水平乙醇的方法以及涉及生产的高乙醇发酵醪。本发明还涉及从植物材料的发酵中生产高蛋白干酒糟的方法,以及涉及生产的高蛋白干酒糟和更干净更干燥的烟囱排放。

[0038] 本发明方法将植物材料的淀粉转化为乙醇。在一个实施方案中,本发明方法可包括制备用于糖化作用的植物材料、将制备的植物材料不经蒸煮而转化为糖以及发酵该糖。

[0039] 可经任意的多种方法,例如经研磨而制备用于糖化作用的植物材料,以便使淀粉可以用于糖化作用和发酵。在一个实施方案中,可研磨植物材料以使磨碎材料的相当大部分,例如大部分适于通过具有 0.1-0.5mm 筛孔的筛子。例如,在一个实施方案中,磨碎的植物材料有大约 70%或以上可通过具有 0.1-0.5mm 筛孔的筛子。在一个实施方案中,粉碎的植物材料可以与液体以大约 20 至大约 50wt%或大约 25 至大约 45wt%粉碎干植物材料的比率混合。

[0040] 该方法可以包括将粉碎的植物材料转化为糖,该糖可经微生物如酵母发酵。可用酶制剂,如糖化酶组合物(saccharifying enzyme composition)糖化粉碎的植物材料来进行该转化。糖化酶组合物可包括各种适于将粉碎的植物材料转化为可发酵糖的已知酶,如淀粉酶(例如, $\alpha$ -淀粉酶和/或葡糖淀粉酶)。在一个实施方案中,糖化作用在 pH 约 6.0 或更低,例如,约 4.5 至约 5.0 进行。

[0041] 本发明方法包括将来自粉碎的植物材料的糖发酵为乙醇。发酵可由微生物,如酵母进行。在一个实施方案中,发酵在 pH 约 6 或更低,例如,约 4.5 至约 5 进行。在一个实施方案中,本发明方法包括改变 pH。例如,发酵可以包括在前一半加料期间在 pH 约 3 至约 4.5 充填(filling)发酵罐以及在发酵罐加料周期的后半期间在 pH 约 4.5 至约 6 加料。在一个实施方案中,发酵在约 25 至约 40°C 或约 30 至约 35°C 温度下进行。在一个实施方案中,发酵期间温度从约 40°C 降至约 30°C 或约 25°C,或者在发酵的前一半期间从约 35°C 降至约

30℃,而在发酵的后一半温度保持在此较低的温度。在一个实施方案中,发酵进行约 25(例如,24)至约 150 小时,例如,进行约 48(例如,47)至约 96 小时。

[0042] 本发明方法可以包括同时将粉碎的植物材料转化为糖以及用微生物如酵母发酵这些糖。

[0043] 发酵过程的产物此处称作“发酵醪”(beer)。乙醇可通过各种已知方法,例如通过蒸馏从发酵混合物、从发酵醪中回收。残留的釜馏物(stillage)包括液体和固体材料。该液体和固体可通过例如离心等分离。

#### [0044] 制备植物材料

[0045] 本发明方法将植物材料的淀粉转化为乙醇。植物材料可经各种方法粉碎,例如经研磨粉碎从而获得可用于糖化和发酵的淀粉。也可以获得用于粉碎植物材料的其他方法。例如,植物材料如玉米粒可用球磨机、轧制机、锤磨机或已知为了降低颗粒大小的目的而用于研磨植物材料和/或其他材料的其他粉碎机研磨。乳化技术、旋转脉动(rotary pulsation)及其他减小颗粒大小的方法的利用均可用于增加植物材料的表面积同时提高使该液化后介质流动的效率。制备的植物材料可以称为“生淀粉”或者包括“生淀粉”。

[0046] 精细研磨暴露出植物材料或植物性材料更多的表面积,而促进糖化作用和发酵。在一个实施方案中,可研磨植物材料从而使磨碎材料的相当部分,例如大部分大小合适通过具有 0.1-0.5mm 筛孔的筛子。在一个实施方案中,磨碎的植物材料的大约 35%或以上大小合适通过具有 0.1-0.5mm 筛孔的筛子。在一个实施方案中,磨碎的植物材料的大约 35%至约 70%大小合适通过具有 0.1-0.5mm 筛孔的筛子。在一个实施方案中,磨碎的植物材料的大约 50%或以上可大小合适通过具有 0.1-0.5mm 筛孔的筛子。在一个实施方案中,磨碎的植物材料的大约 90%大小合适通过具有 0.1-0.5mm 筛孔的筛子。在一个实施方案中,所有磨碎的植物材料均大小合适通过具有 0.1-0.5mm 筛孔的筛子。

#### [0047] 分级分离

[0048] 在一个实施方案中,植物材料可分级分离为一个或多个组分。例如,植物材料如禾谷类谷粒或玉米可分级分离为诸如纤维(例如,玉米纤维)、胚芽(例如,玉米胚芽)以及淀粉和蛋白质的混合物(例如,玉米淀粉和玉米蛋白质的混合物)等组分。这些组分的一种或混合物可按照本发明的方法发酵。玉米或其它植物材料的分级分离可通过各种方法或装置完成。例如,由 Satake 生产的系统可用于分级分离植物材料如玉米。

#### [0049] 糖化和发酵

#### [0050] 糖化

[0051] 本发明方法包括将粉碎的植物材料转化为糖,该糖可经微生物如酵母发酵。可通过用任何已知的多种糖化酶组合物之任一种糖化该粉碎的植物材料而进行转化。在一个实施方案中,糖化酶组合物包括淀粉酶,如  $\alpha$  淀粉酶(例如酸性真菌淀粉酶)。该酶制剂还可以包括葡糖淀粉酶。该酶制剂不必,且在一个实施方案中,不包括蛋白酶。然而,按照本发明的乙醇生产方法可通过再利用可能包含蛋白酶的工艺用水(回糟)而节约用水。在一个实施方案中,本发明方法使用酸性真菌淀粉酶水解生淀粉。

[0052] 糖化作用可不经蒸煮而进行。例如,可通过将研磨的谷物和工艺用水与糖化酶组合物源(例如,工业酶)、酵母和发酵组分混合,不经蒸煮而进行糖化。

[0053] 在一个实施方案中,糖化过程包括将粉碎的植物材料和液体混合(其可形成浆液

或悬浮液),以及向液体中添加糖化酶组合(例如,酸性真菌淀粉酶和葡糖淀粉酶的至少一种)。在一个实施方案中,该方法包括将粉碎的植物材料和液体混合,随后添加糖化酶组合(例如,酸性真菌淀粉酶和葡糖淀粉酶的至少一种)。或者,添加酶组合可在混合之前或混合时进行。

[0054] 在一个实施方案中,粉碎的植物材料可以以约 20 至约 50wt%、约 25 至约 45(例如,44)wt%、约 30 至约 40(例如,39)wt%,或以约 35wt%粉碎的干植物材料的比率与液体混合。如此处使用的,液体中粉碎植物材料的 wt%指干燥物质粉碎的植物材料或干固形物的百分比。在一个实施方案中,相比用蒸煮的常规糖化作用,本发明的方法可将生淀粉或天然淀粉(例如,在干的粉碎的植物材料中)以更高的干固形物水平以更快的速率转化为乙醇。虽然不限制本发明,但认为本发明方法可以以更高的干固形物水平进行,因为不同于常规方法,本发明方法不包括增加粘度的糊化作用。

[0055] 合适的液体包括水以及水和工艺用水(process waters)的混合物,所述工艺用水为例如釜馏物(回槽)、气体洗涤水(scrubber water)、蒸发器冷凝液或馏出液、来自蒸馏的侧线汽提塔(side stripper)水或其他乙醇工厂的工艺用水。在一个实施方案中,液体包括水。在一个实施方案中,液体包括与约 1 至约 70%体积釜馏物、约 15 至约 60%体积釜馏物、约 30 至约 50%体积釜馏物,或约 40%体积釜馏物混合的水。

[0056] 在应用糊化作用和液化作用的常规方法中,釜馏物提供酵母有效发酵的养分,尤其是酵母所需的自由氨基氮(FAN)。本发明可在提供降低水平的釜馏物以及甚至不添加釜馏物的情况下实现有效发酵。在一个实施方案中,本发明方法使用植物材料制备物,该制备物在高比重条件下(例如,在高水平粉碎的植物材料存在时)提供足够数量以及质量的氮用于有效发酵。因此,在一个实施方案中,不需要釜馏物或仅低水平的釜馏物就足够了。

[0057] 然而,如果需要的话,本发明方法提供使用高水平釜馏物的机动性。本发明方法不使用常规的液化作用。常规的液化作用增加发酵混合物以及所得釜馏物的粘度。本发明方法产生较低粘度的釜馏物。因此,在一个实施方案中,本发明方法可采用提高的釜馏物水平而不引起发酵混合物和所得釜馏物的粘度的不利增加。

[0058] 此外,虽然不限制本发明,但认为由于在高温糊化作用和液化作用期间发生不期望的“美拉德反应(Maillard Reactions)”,常规的糖化以及发酵过程需要加入 FAN。美拉德反应在蒸煮期间消耗 FAN。因此,常规方法需要添加釜馏物以在发酵中提高 FAN 的水平。本发明方法被认为可以避免温度诱导的美拉德反应并且在粉碎的植物材料中提供增高水平的 FAN,这些 FAN 在发酵中能被酵母有效利用。

[0059] 糖化可使用各种已知酶源(例如,微生物)或组合物之任一种进行,以从粉碎的植物材料中产生可发酵糖。在一个实施方案中,糖化酶组合包括淀粉酶,如  $\alpha$  淀粉酶(例如,酸性真菌淀粉酶)或葡糖淀粉酶。

[0060] 在一个实施方案中,糖化作用在 pH 约 6.0 或更低、pH 约 3.0 至约 6.0、约 3.5 至约 6.0、约 4.0 至约 5.0、约 4.0 至约 4.5,或约 4.5 至约 5.0 时进行。可通过添加例如,氨、硫酸、磷酸、工艺用水(例如,釜馏物(回槽)、蒸发器冷凝液(馏出液)、侧线汽提塔下残液(bottom)等等)等等而调节糖化作用混合物的初始 pH。某些糖化酶组合(例如,酸性真菌淀粉酶和葡糖淀粉酶的至少一种)的活性可在低于上述范围的 pH 时得到提高。

[0061] 在一个实施方案中,糖化作用在约 25 至约 40°C 或约 30 至约 35°C 温度下进行。

[0062] 在一个实施方案中,糖化过程使用所选量的糖化酶组合物(例如,酸性真菌淀粉酶和葡糖淀粉酶的至少一种)进行以维持发酵液中糊精的低浓度。例如,本发明方法可使用为达到如下目的而选择的糖化酶组合物(例如,酸性真菌淀粉酶和葡糖淀粉酶的至少一种)量,所述目的为维持麦芽三糖(DP3)水平等于或低于约0.2wt%或者等于或低于约0.1wt%。例如,本发明方法使用所选大量的糖化酶组合物(例如,酸性真菌淀粉酶和葡糖淀粉酶的至少一种)以维持具有4或以上聚合度的糊精(DP4+)等于或低于约1wt%或者等于或低于约0.5wt%的水平。为维持低水平的麦芽三糖和/或DP4+,合适的酸性真菌淀粉酶和葡糖淀粉酶水平包括酸性真菌淀粉酶约0.3至约3AFU/g干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)以及葡糖淀粉酶约1至约2.5(例如,2.4)AGU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)。在一个实施方案中,反应混合物包括酸性真菌淀粉酶约1至约2AFU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)以及葡糖淀粉酶约1至约1.5AGU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)。

[0063] 在一个实施方案中,糖化过程使用所选量的糖化酶组合物(例如,酸性真菌淀粉酶和葡糖淀粉酶的至少一种)进行以维持发酵液中麦芽糖的低浓度。例如,本发明方法可以使用所选量的糖化酶组合物(例如,酸性真菌淀粉酶和葡糖淀粉酶的至少一种)以维持麦芽糖等于或低于约0.3wt%的水平。为维持低水平的麦芽糖,合适的酸性真菌淀粉酶和葡糖淀粉酶水平包括酸性真菌淀粉酶约0.3至约3AFU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)以及葡糖淀粉酶约1至约2.5(例如,2.4)AGU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)。在一个实施方案中,反应混合物包括约1至约2AFU酸性真菌淀粉酶/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)以及约1至约1.5AGU葡糖淀粉酶/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)。

#### [0064] 酸性真菌淀粉酶

[0065] 在某些实施方案中,本发明方法使用 $\alpha$ -淀粉酶。该 $\alpha$ -淀粉酶可以由真菌产生的。该 $\alpha$ -淀粉酶的特征可以为其具有在酸性条件下水解碳水化合物的能力。由真菌产生且在酸性条件下能水解碳水化合物的淀粉酶此处称为酸性真菌淀粉酶,且亦称酸稳定的真菌 $\alpha$ -淀粉酶。酸性真菌淀粉酶可催化已部分水解的淀粉以及大的寡糖水解为诸如葡萄糖等糖。可用于本发明方法的酸性真菌淀粉酶可以以其能够帮助生淀粉或天然淀粉水解从而增强葡糖淀粉酶提供的糖化作用的能力为特征。在一个实施方案中,该酸性真菌淀粉酶比常规的(例如,细菌的) $\alpha$ -淀粉酶产生更多的麦芽糖。

[0066] 合适的酸性真菌淀粉酶可从各种真菌物种中分离,包括曲霉属(*Aspergillus*)、根霉属(*Rhizopus*)、毛霉属(*Mucor*)、念珠菌属(*Candida*)、革盖菌属(*Coriolus*)、疫病霉属(*Endothia*)、*Enthomophtora*、耙菌属(*Irpex*)、青霉属(*Penicillium*)、小核菌属(*Sclerotium*)和球拟酵母属(*Torulopsis*)。在一个实施方案中,酸性真菌淀粉酶是热稳定的且分离自曲霉属(*Aspergillus*)物种,如黑曲霉(*A.niger*)、*A.saitoi*或米曲霉(*A.oryzae*),分离自毛霉属(*Mucor*)物种,如微小毛霉(*M.pusillus*)或米赫毛霉(*M.miehei*),或分离自疫病霉属(*Endothia*),如寄生疫病霉(*E.parasitica*)。在一个实施方案中,酸性真菌淀粉酶分离自黑曲霉(*Aspergillus niger*)。酸性真菌淀粉酶活性可以作为葡糖淀粉酶制剂中的一种活性而提供,或其可以作为单独的酶而添加。合适的酸性真菌淀粉酶可从Novozymes获得,例如与葡糖淀粉酶一起。



[0067] 本发明方法中使用的酸性真菌淀粉酶量可根据淀粉酶制剂的酶活性而改变。合适的量包括约 0.1 至约 10 酸性真菌淀粉酶单位 (AFAU)/ 克干固形的粉碎植物材料 (例如, 干固形的玉米 (DSC))。在一个实施方案中反应混合物可包括约 0.3 至约 3AFAU/ 克干固形的粉碎植物材料 (例如, DSC)。在一个实施方案中反应混合物可包括约 1 至约 2AFAU/ 克干固形的粉碎植物材料 (例如, DSC)。

#### [0068] 葡糖淀粉酶

[0069] 在某些实施方案中, 本发明方法可使用葡糖淀粉酶。葡糖淀粉酶亦称淀粉葡萄糖苷酶且分类名称为 1,4- $\alpha$ -D- 葡聚糖葡萄糖水解酶 (E. C. 3. 2. 1. 3)。葡糖淀粉酶指从淀粉的非还原端除去连续的葡萄糖单元的酶。例如, 某些葡糖淀粉酶可水解淀粉、直链淀粉和支链淀粉的直链和支链糖苷键。各种合适的葡糖淀粉酶是已知的且是市场上可买到的。例如, 如 Novozymes 和 Genencor 等供应商提供葡糖淀粉酶。葡糖淀粉酶可以是真菌来源的。

[0070] 本发明方法中使用的葡糖淀粉酶量可根据淀粉酶制剂的酶活性而改变。合适的量包括约 0.1 至约 6.0 葡糖淀粉酶单位 (AGU)/ 克干固形的粉碎的植物材料 (例如, DSC)。在一个实施方案中反应混合物可包括约 1 至约 3AGU/ 克干固形的粉碎植物材料 (例如, DSC)。在一个实施方案中反应混合物可包括约 1 至约 2.5 (例如, 2.4)AGU/ 克干固形的粉碎植物材料 (例如, DSC)。在一个实施方案中反应混合物可包括约 1 至约 2AGU/ 克干固形的粉碎植物材料 (例如, DSC)。在一个实施方案中, 反应混合物可包括约 1 至约 1.5AGU/ 克干固形的粉碎植物材料 (例如, DSC)。在一个实施方案中, 反应混合物可包括约 1.2 至约 1.5AGU/ 克干固形的粉碎植物材料 (例如, DSC)。

#### [0071] 发酵

[0072] 本发明方法包括将来自粉碎植物材料的糖发酵为乙醇。发酵可由微生物, 如酵母进行。该发酵混合物不必, 且在一个实施方案中, 不包括蛋白酶。然而, 工艺用水可能包含蛋白酶。该蛋白酶的量可低于常规方法中所用的量。根据本发明, 发酵对未经蒸煮的淀粉组合物进行。在一个实施方案中, 该发酵方法产生可饮用的醇。可饮用的醇具有仅仅可接受的无毒水平的其他醇, 如杂醇油。发酵可包括将包含来自粉碎植物材料的糖的混合物与酵母在适于酵母生长和乙醇生产的条件下接触。在一个实施方案中, 发酵使用糖化混合物。

[0073] 各种酵母都可作为酵母起子 (starter) 用于本发明方法中。合适的酵母包括各种市场上可买到的酵母, 如商业化的酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 菌株。合适的菌株包括 "Fali" (Fleischmann's)、Thermosac (Alltech)、Ethanol Red (LeSafre)、BioFerm AFT (North American Bioproducts), 等等。在一个实施方案中, 选择在高温和高乙醇水平存在时提供快速生长和发酵速度的酵母。在一个实施方案中, 发现 Fali 酵母提供据测量大于 17% 体积的最终乙醇含量的良好性能。

[0074] 选择所用酵母起子的量以在合适的时间, 例如小于 75 小时内有效生产商业上有意义的乙醇量。

[0075] 可通过各种用于添加酵母至发酵过程的已知方法将酵母加入发酵物。例如, 酵母起子可以作为一批干原料, 或经过调理 (conditioning)/ 增殖而加入。在一个实施方案中, 酵母起子作为单一接种物加入。在一个实施方案中, 酵母以每 100,000 加仑发酵醪 5 至 100 磅活的干酵母 (ADY) 的速率在充填发酵罐期间加入发酵物。在一个实施方案中, 酵母可通过在预发酵罐或繁殖罐中以每 10,000 加仑发酵罐体积孵育约 5 至 50 磅的 ADY 进行适应或

调理。在繁殖阶段, 孵育可为 8 至 16 小时, 其中也经通气以刺激酵母生长。用于接种主发酵罐的预发酵罐可以是主发酵罐的 1 至 10% 容积, 例如, 相对于主发酵罐的 2.5 至 5% 的容积。

[0076] 在一个实施方案中, 发酵在 pH 约 6 或更低、pH 约 3 至约 6、约 3.5 至约 6、约 4 至约 5、约 4 至约 4.5 或约 4.5 至约 5 时进行。发酵混合物的初始 pH 可通过添加例如, 氨、硫酸、磷酸、工艺用水 (例如, 釜馏物 (回糟)、蒸发器冷凝液 (馏出液)、侧线汽提塔下残液等等) 等等而调节。

[0077] 尽管不限制本发明, 但认为已知的酒精酵母在 pH 3 至 6 的范围生长良好, 但相比大多数污染性细菌菌株其更耐受低至 3.0 的较低 pH。污染性乳酸和醋酸细菌在 pH 5.0 及更高时生长最好。因此, 认为在 pH 3.0 至 3.5 的范围内, 由于酵母比污染细菌生长得更好, 乙醇发酵占主导地位。

[0078] 在一个实施方案中, 本发明方法可包括改变 pH。进行 pH 的改变被认为可在发酵早期降低污染的可能性和 / 或在发酵后期阶段增强酵母的生长和发酵。例如, 发酵可以包括在前一半加料期间于 pH 约 3 至约 4.5 充填发酵罐。发酵可以包括在发酵罐加料周期的后半一半期间提高浆液的 pH 至 pH 约 4.5 至约 6。发酵可以包括通过添加如上所述所需 pH 的新鲜底物浆液而维持 pH。在一个实施方案中, 发酵期间 (加料后) 不调节 pH。相反, 在该实施方案中, pH 由加料期间组分的 pH 确定。

[0079] 在一个实施方案中, 在玉米工艺用水中 pH 降低至约五 (5) 或以下。在一个实施方案中, pH 在发酵加料起始时为大约 pH 4 (例如, 4.1) 且朝着发酵加料结束, pH 提高至约 pH 5 (例如, 5.2)。在一个实施方案中, 该方法包括在发酵罐的加料初期建立酵母培养物后停止糖化醪浆液的 pH 控制, 随后在发酵罐的加料末期允许玉米工艺用水中 pH 上浮。

[0080] 在一个实施方案中, 发酵进行约 25 (例如, 24) 至约 150 小时、约 25 (例如, 24) 至约 96 小时、约 40 至约 96 小时、约 45 (例如, 44) 至约 96 小时、约 48 (例如, 47) 至约 96 小时。例如, 发酵可进行约 30、约 40、约 50、约 60 或约 70 小时。例如, 发酵可进行约 35、约 45、约 55、约 65 或约 75 小时。

[0081] 在一个实施方案中, 发酵在约 25 至约 40°C 或约 30 至约 35°C 温度下进行。在一个实施方案中, 发酵期间温度从约 40°C 降至约 30°C 或约 25°C, 或在发酵的前一半期间从约 35°C 降至约 30°C, 而在发酵的后一半温度保持在该较低的温度。在一个实施方案中, 温度可随乙醇产生而降低。例如, 在一个实施方案中, 发酵期间温度可高达约 99° F 随后降为约 79° F。此温度下降可与发酵罐中提高的乙醇滴度 (%) 相协调。

[0082] 在一个实施方案中, 本发明方法包括固形物分段 (solids staging)。固形物分段包括在发酵罐加料周期的初始阶段以不成比例的更高固形物水平加料以提高初始发酵速度。加入发酵罐的糖化醪 (mash) 的固形物浓度可随后随着乙醇滴度提高和 / 或发酵罐加料周期接近完成而降低。在一个实施方案中, 固形物浓度在前一半发酵加料期间可为约 40% (例如, 41%)。在发酵罐装满 50% 后可降低至约 25% 且持续直至发酵罐加料周期结束。在以上实例中, 上述策略导致整个发酵罐具有 33% 的固形物。

[0083] 固形物分段被认为可通过利用更多的初始加料固形物而促进酶水解速率以及促使发酵的快速启动。此外认为在加料的后一半减少固形物可降低对酵母的渗透压相关的胁迫效应。通过将发酵罐总体的充填固形物维持在指定的发酵能力范围内, 固形物分段可以

提高临近发酵结束,酵母发酵高比重糖化醪的能力。

#### [0084] 同时糖化和发酵

[0085] 本发明方法可以包括同时将粉碎的植物材料转化为糖以及用如酵母等微生物发酵那些糖。同时糖化和发酵可利用上述用于糖化和发酵的试剂和条件进行。

[0086] 在一个实施方案中,糖化和发酵在约 25 至约 40°C 或约 30 至约 35°C 温度下进行。在一个实施方案中,糖化和发酵期间温度从约 40°C 降至约 25°C,或在糖化的前半期间从约 35°C 降至约 30°C,而在糖化的后半温度保持在该较低的温度。

[0087] 尽管不限制本发明,但认为在糖化和发酵早期当乙醇浓度低时较高的温度可提高淀粉向可发酵糖的转化,这可帮助提高乙醇产量。在较高的乙醇浓度时,乙醇可负面影响酵母。因此,认为糖化和发酵后期较低的温度有利于降低对酵母的胁迫,这可帮助提高乙醇产量。

[0088] 仍不限制本发明,认为糖化和发酵早期较高的温度可在至少一部分发酵期间降低粘度,这可帮助温度控制。还认为糖化和发酵后期较低的温度有利于在酵母终止发酵后减少葡萄糖的生成。发酵晚期葡萄糖的生成对干酒糟联产品 (co-product) 的颜色不利。

[0089] 在一个实施方案中,糖化和发酵在 pH 约 6 或更低、pH 约 3 至约 6、约 3.5 至约 6、约 4 至约 5、约 4 至约 4.5 或约 4.5 至约 5 时进行。糖化和发酵混合物的初始 pH 可通过添加例如,氨、硫酸、磷酸、工艺用水 (例如,釜馏物 (回糟)、蒸发器冷凝液 (馏出液)、侧线汽提塔下残液等等) 等等而调节。

[0090] 在一个实施方案中,糖化和发酵进行约 25 (例如,24) 至约 150 小时、约 25 (例如,24) 至约 72 小时、约 45 至约 55 小时、约 50 (例如,48) 至约 96 小时、约 50 至约 75 小时或约 60 至约 70 小时。例如,糖化和发酵可进行约 30、约 40、约 50、约 60 或约 70 小时。例如,糖化和发酵可进行约 35、约 45、约 55、约 60 或约 75 小时。

[0091] 在一个实施方案中,同时糖化和发酵可使用选择的酶和酵母的量进行以维持发酵液中高浓度的酵母和高水平的酵母出芽。例如,本发明方法可以使用为维持酵母等于或高于约 300 细胞 / 毫升或等于大约 300 至约 600 细胞 / 毫升而选择的酶和酵母的量。

[0092] 在一个实施方案中,同时糖化和发酵可使用选择量的酶和酵母进行,以在不添加外源氮;不添加蛋白酶和 / 或不添加回糟时有效发酵。如果需要,可以添加回糟,以消耗工艺用水和减少由本发明方法产生的废水量。另外,本发明方法在糖化和发酵期间维持低粘度。

[0093] 例如,同时糖化和发酵可使用约 0.1 至约 10AFU/ 克干固形的粉碎植物材料 (例如, DSC) 的酸性真菌淀粉酶和约 0.5 至约 6AGU/ 克干固形的粉碎植物材料 (例如, DSC) 的葡糖淀粉酶。例如,同时糖化和发酵可使用约 0.3 至约 3AFU/ 克干固形的粉碎植物材料 (例如, DSC) 的酸性真菌淀粉酶和约 1 至约 3AGU/ 克干固形的粉碎植物材料 (例如, DSC) 的葡糖淀粉酶。例如,同时糖化和发酵可使用约 1 至约 2AFU/ 克干固形的粉碎植物材料 (例如, DSC) 的酸性真菌淀粉酶和约 1 至约 1.5AGU/ 克干固形的粉碎植物材料 (例如, DSC) 的葡糖淀粉酶。

[0094] 在一个实施方案中,同时糖化和发酵可使用选择量的酶和酵母进行以维持发酵液中低浓度的葡萄糖。例如,本发明方法可以使用选择量的酶和酵母以维持葡萄糖等于或低于约 2wt%、等于或低于约 1wt%、等于或低于约 0.5wt%、或等于或低于约 0.1wt% 的水平。

例如,本发明方法可以使用选择量的酶和酵母以维持糖化和发酵期间葡萄糖等于或低于约 2wt% 的水平。例如,本发明方法可以使用选择量的酶和酵母以维持在糖化和发酵时间的 0-10 小时(或 0 至该时间的约 15%)葡萄糖在等于或低于约 2wt% 的水平。例如,本发明方法可以使用选择量的酶和酵母以维持在糖化和发酵时间的 12-54 小时(或该时间的约 15% 至约 80%)葡萄糖在等于或低于约 1wt%、等于或低于约 0.5wt% 或者等于或低于约 0.1wt% 的水平。例如,本发明方法可以使用选择量的酶和酵母以维持在糖化和发酵时间的 54-66 小时(或该时间的约 80% 至约 100%)葡萄糖在等于或低于约 1wt% 的水平。合适的酶水平包括约 0.3 至约 3AFU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的酸性真菌淀粉酶和约 1 至约 3AGU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的葡糖淀粉酶。例如,同时糖化和发酵可使用约 1 至约 2AFU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的酸性真菌淀粉酶和约 1 至约 1.5AGU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的葡糖淀粉酶。

[0095] 在一个实施方案中,同时糖化和发酵可使用选择量的酶和酵母进行以维持发酵液中低浓度的麦芽糖(DP2)。例如,本发明方法可使用选择量的酶和酵母以维持麦芽糖等于或低于约 0.5wt% 或者等于或低于约 0.2wt% 的水平。合适的酶水平包括约 0.3 至约 3AFU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的酸性真菌淀粉酶和约 1 至约 3AGU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的葡糖淀粉酶。例如,同时糖化和发酵可使用约 1 至约 2AFU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的酸性真菌淀粉酶和约 1 至约 1.5AGU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的葡糖淀粉酶。

[0096] 在一个实施方案中,同时糖化和发酵可使用选择量的酶和酵母进行以维持发酵液中低浓度的糊精。例如,本发明方法可以使用选择量的酶和酵母以维持麦芽三糖(DP3)等于或低于约 0.5wt%、等于或低于约 0.2wt%、或者等于或低于约 0.1wt% 的水平。例如,本发明方法可以使用选择量的酶和酵母以维持具有 4 或以上聚合度的糊精(DP4+)等于或低于约 1wt% 或者等于或低于约 0.5wt% 的水平。合适的酶水平包括约 0.3 至约 3AFU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的酸性真菌淀粉酶和约 1 至约 3AGU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的葡糖淀粉酶。例如,同时糖化和发酵可使用约 1 至约 2AFU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的酸性真菌淀粉酶和约 1 至约 1.5AGU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的葡糖淀粉酶。

[0097] 在一个实施方案中,同时糖化和发酵可使用选择量的酶和酵母进行以维持发酵液中低浓度的杂醇油。例如,本发明方法可以使用选择量的酶和酵母以维持杂醇油等于或低于约 0.4 至约 0.5wt% 的水平。合适的酶水平包括约 0.3 至约 3AFU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的酸性真菌淀粉酶和约 1 至约 3AGU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的葡糖淀粉酶。例如,同时糖化和发酵可使用约 1 至约 2AFU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的酸性真菌淀粉酶和约 1 至约 1.5AGU/克干固形的粉碎植物材料(例如,DSC)的葡糖淀粉酶。

[0098] 用于糖化和 / 或发酵的其它组分

[0099] 糖化和 / 或发酵混合物可包括其它组分以提高该方法的效率。例如,混合物可包括额外的养分(例如,酵母微量营养)、抗生素、盐、额外的酶,等等。养分可来源于加至该液体的釜馏物或回糟。合适的盐包括锌或镁盐,如硫酸锌、硫酸镁,等等。合适的额外的酶包括那些加至常规方法的酶,如蛋白酶、肌醇六磷酸酶、纤维素酶、半纤维素酶、外切 - 和内

切 - 葡聚糖酶、木聚糖酶, 等等。

[0100] 从发酵醪中回收乙醇

[0101] 此处发酵过程的产物称作“发酵醪 (beer)”。例如, 发酵玉米产生“玉米发酵醪”。乙醇可通过各种已知的方法从发酵混合物、从发酵醪中回收。例如, 乙醇可通过蒸馏回收。

[0102] 残留的釜馏物包括液体和固体材料。该液体和固体可通过, 例如离心分离。回收的液体——酒糟水 (thin stillage)——可用作形成糖化和发酵混合物的液体的至少一部分, 用于随后的发酵批次或运转。

[0103] 回收的固形物——干酒糟——包括未发酵的谷物固形物和消耗的酵母固形物。酒糟水 (thin stillage) 可浓缩为糖浆 (syrup), 其可加至干酒糟而该混合物随后可以干燥以形成干酒糟加可溶物 (distillers dried grain plus solubles)。干酒糟和 / 或干酒糟加可溶物可作为动物饲料出售。

[0104] 燃尽 (burn-out) 残留淀粉用于随后的发酵

[0105] 在一个实施方案中, 本发明方法包括发酵醪或釜馏物的热处理, 例如在发酵池 (beer well) 和蒸馏之间。在称为燃尽 (burn-out) 的过程中, 此热处理可将淀粉转化为糊精和糖用于随后的发酵。所述处理步骤还可以减少蒸馏塔板和蒸发器热交换表面的淤塞 (fouling)。在一个实施方案中, 可对整个釜馏物进行分段热处理。残留淀粉的酶处理后, 在一个实施方案中, 所得的糊精和糖可作为再循环的回槽在主发酵过程中发酵或者在分开的发酵系列 (fermentation train) 中加工以产生乙醇。

[0106] 从发酵物分级分离固形物

[0107] 大块的胚芽和纤维可在发酵罐中发酵残留的淀粉。发酵后, 这些级分可在蒸馏前或之后除去。可在蒸馏前用表面撇渣器实施去除。在一个实施方案中, 可对发酵醪进行过筛。过筛后的材料随后可通过例如离心和旋转蒸汽锅干燥 (rotary steam drum drying) 而从乙醇 / 水的混合物中分离, 这可从该饼 (cake) 中除去残留的乙醇。在更大的纤维和胚芽块在大批发酵醪蒸馏前除去的实施方案中, 可使用针对此纤维 / 胚芽流的分开的汽提塔。或者, 可通过在蒸馏后将全部釜馏物过筛而除去纤维和胚芽。

[0108] 在一个实施方案中, 将所有的组分混合且一起干燥。纤维和胚芽可通过风选 (aspiration) 和 / 或筛分 (size classification) 而从最终产品中除去。可从 DDGS 中风选纤维。通过干燥后风选而去除纤维分别使残留的 DDGS 中油和蛋白质的量提高了 0.2 至 1.9% 和 0.4 至 1.4%。残留 DDGS 中 NDF 的量降低 0.1 至 2.8%。

[0109] 在一个实施方案中, 分级分离可使用更大的纤维和胚芽块以提高源于胚乳的 DDGS 的那部分的颗粒大小和提高糖浆承载能力。环形干燥器粉碎机 (ring dryer disintegrator) 可造成一定的粒度减小以及均质化作用。

[0110] 连续发酵

[0111] 本发明方法可通过分批或连续法运转。连续法包括使糖化和 / 或发酵混合物移动通过 (泵过) 一系列的容器 (例如, 槽) 以使该过程持续足够的时间。例如, 连续法可使用多阶段式发酵系统, 48-96 小时停留时间。例如, 粉碎的植物材料可装进用于糖化和发酵的第一容器的顶端。部分孵育和发酵的混合物可以随后从第一容器的底部移出而送进第二容器的顶端, 等等。

[0112] 虽然不限制本发明,但认为本发明方法比常规方法更适于以连续工艺运转。认为本发明方法可以降低以连续方式运行时污染生物体的生长机会。目前,大多数干燥粉碎乙醇生产工厂使用分批发酵技术。部分原因为难于防止因这些常规方法中的污染引起的损耗。对于利用传统液化技术的有效的连续发酵,一般认为发酵前分开的糖化阶段对预-糖化用于发酵的发酵醪是必需的。这种预-糖化确保了有足够可发酵的葡萄糖用于连续发酵过程。

[0113] 本发明方法实现了高浓度乙醇的有效生产而在发酵前无液化作用和糖化作用阶段。由于常规知识教导在以连续方式进行发酵的过程中必须具有足够水平可用的可发酵糖,因此这是令人惊奇的。相反地,本发明方法可提供低浓度的葡萄糖和有效的发酵。在本发明方法中,葡萄糖看来是被正发酵的酵母细胞快速消耗了。这种低葡萄糖水平被认为减少了对酵母的胁迫,如由渗透压抑制和细菌污染压力引起的胁迫。根据本发明,在约 45 至约 96 小时中可达到大于 18% 体积的乙醇水平。

#### [0114] 高乙醇发酵醪

[0115] 本发明还涉及高乙醇发酵醪。在一个实施方案中,本发明的方法产生包含大于 18% 体积乙醇的发酵醪。本发明方法可在约 40 至约 96 小时或约 45 至约 96 小时内产生此高乙醇发酵醪。在一个实施方案中,发酵醪包含 18% 体积至约 23% 体积的乙醇。例如,本发明方法可在约 45 至 96 小时内于发酵罐中产生 18 至 23% 体积的乙醇含量。

[0116] 作为另一实例,本发明方法可在约 45 至 96 小时内于发酵罐中产生 18 至 23% 体积的乙醇含量。在某些实施方案中,大多数乙醇(终浓度的 80% 或以上)在起始的 45 小时内产生。随后,另外的 2 至 5% 体积乙醇在最终的 12-48 小时内产生。在发酵时间达到 96 小时时可达到 23% 体积的乙醇浓度。在发酵 48 至 72 小时后收获以提高发酵罐的生产力,这可能是经济上有利的。

[0117] 本发明发酵醪可包含此高水平的乙醇,即使在其包含高水平残留淀粉时也如此。例如,当包含 0 至 30% 残留淀粉时本发明发酵醪可包含 18 至 23% 体积的乙醇。该发酵醪可包含低至 0% 至高达 20% 的残留淀粉。

[0118] 使用常规手段,高水平残留的淀粉显示低效的发酵,这仅产生低水平的乙醇。可是,虽然不限制本发明,但认为本发明方法产生较少的美拉德型反应产物以及更有效的酵母发酵(例如,降低的次级代谢产物水平)。这被认为是由于与常规糖化作用和液化作用相比本发明方法具有低葡萄糖水平和低温所引起的。因此,即使有较高水平的残留淀粉,本发明方法仍可产生更多的乙醇。

[0119] 在一个实施方案中,本发明发酵醪比常规发酵醪包含较少的残留副产物(byproduct),尽管残留的淀粉可能比较多。例如,残留的葡萄糖、麦芽糖和高级糊精(DP3+)可达到 0.8wt%, 低于在类似的发酵条件下产生的常规发酵醪中的量。作为另一个实例,残留的甘油可以达到 0.45wt% 或更低。乳酸和杂醇油也显著减少。例如,本发明发酵醪可以包含小于或等于约 0.2wt% 的葡萄糖、约 0.4wt%、约 0.1wt% 的 DP3、检测不到的 DP4+、0.45wt% 的甘油、约 0.01wt% 的乳酸和 / 或约 0.4wt% 的杂醇油。

#### [0120] 干酒糟

#### [0121] 高蛋白干酒糟

[0122] 本发明还涉及干酒糟产物。干酒糟还可以包含提高水平的一种或多种蛋白质、脂

肪、纤维（例如，中性去垢纤维（neutral detergent fiber, NDF））和淀粉。例如，干酒糟可包含 34wt% 或更高的蛋白质或约 30 至约 45wt% 的蛋白质或比通过常规方法生产的多约 1 至约 2wt% 的蛋白质。例如，干酒糟可包含 15wt% 或更高的脂肪、约 13 至约 17wt% 的脂肪或比通过常规方法生产的多约 1 至约 6wt% 的脂肪。例如，干酒糟可包含 31wt% 或更高的纤维、约 23 至约 37wt% 的纤维或比通过常规方法生产的多约 3 至约 13wt% 的纤维。例如，干酒糟可包含 12wt% 或更高的淀粉、约 1 至约 23wt% 的淀粉或比通过常规方法生产的多约 1 至约 18wt% 的淀粉。

[0123] 在一个实施方案中，相比常规的干酒糟产物，本发明干酒糟包含水平提高的维生素 B、维生素 C、维生素 E、叶酸和 / 或维生素 A。本发明干酒糟相比常规的干酒糟产物具有更鲜艳的金色。

[0124] 具有改良的物理性质的干酒糟

[0125] 本发明还涉及具有一种或多种改良的物理性质的干酒糟，如减少结块 (caking) 或压实 (compaction) 或增强流动性。本发明方法可产生这种改良的干酒糟。

[0126] 虽然不限制本发明，但认为本发明方法可产生包含更高分子量形式的碳水化合物的发酵固形物。该发酵固形物据认为可表现出较高的玻璃化转变温度（即，较高的  $T_g$  值）。例如，残留的淀粉具有高的  $T_g$  值。因此，通过控制 DDG 和 DDGS 中淀粉含量，本发明方法可制备具有靶  $T_g$  值的 DDG 或 DDGS。

[0127] 此外，根据本发明，向发酵固形物（例如，干酒糟）中添加碱性糖浆混合物（例如，糖浆加上添加的石灰或其他碱性材料）可使干酒糟加可溶物 (DDGS) 减少结块或压实或增强流动性。

[0128] 虽然不限制本发明，但认为发酵中产生的有机酸如乳酸、醋酸和琥珀酸比其相应的钙盐具有更低的  $T_g$  值。维持较高分子量形式的残留碳水化合物或添加石灰以形成有机酸的钙盐，为形成较高  $T_g$  值联产品的两种策略，该联产品将具有较低可能性发生玻璃化转变，后者导致称为结块的有害现象。

[0129] 虽然不限制本发明，但认为本发明的方法不必破坏发酵的植物材料中的蛋白质。玉米含有谷醇溶蛋白，如玉米醇溶蛋白。例如，高粱包含称为高粱醇溶蛋白的一类玉米醇溶蛋白样蛋白质，其氨基酸组成类似于玉米醇溶蛋白。液化、蒸馏和高温干燥期间发生的热降解导致包含相当大量的降解蛋白质的 DDG 和 DDGS。本发明的方法被认为可改良粮谷 (cereal grain) 的谷醇溶蛋白级分的水平。

[0130] 据认为，延长暴露于通过本发明方法实现的高醇浓度可调节植物材料中的蛋白质。这可溶解一些蛋白质。例如，据认为在蒸馏中乙醇浓度可以达到可溶解发酵醪中谷醇溶蛋白（例如，玉米醇溶蛋白）的水平。在从发酵醪中去除或“脱去 (strip)”乙醇后，谷醇溶蛋白（如玉米醇溶蛋白）可回收浓缩于 DDG 和 DDGS 中。所得高蛋白含量的 DDG 和 DDGS 对于 DDG 和 DDGS 的各种终用途是有益的，例如在另外的加工或配合 (compounding) 中。

[0131] 在一个实施方案中，本发明的有效发酵方法从 DDG 或 DDGS 中除去了非玉米醇溶蛋白的组分如淀粉。分级分离植物材料，例如玉米，也可以提高 DDG 或 DDGS 中蛋白质，如玉米醇溶蛋白的水平。例如，发酵前除去糠麸和胚芽 (germ) 级分可在底物中浓缩玉米醇溶蛋白。玉米中的玉米醇溶蛋白被隔离在胚乳中。玉米醇溶蛋白富集的胚乳的发酵引起发酵残留物中玉米醇溶蛋白的浓缩。

[0132] 在一个实施方案中,本发明的方法可提供具有不同预定  $T_g$  值的 DDG 和 DDGS。本发明的方法可发酵包含高、中或低水平玉米醇溶蛋白的级分,由此改变所得 DDG 或 DDGS 的玻璃化转变温度。所得联产品的  $T_g$  可以与谷醇溶蛋白(如玉米醇溶蛋白)的含量成正比。本发明的方法期望用于高蛋白玉米的发酵。这也允许具有较高谷醇溶蛋白(玉米醇溶蛋白)含量的 DDG 和 DDGS 的生产。

[0133] 发酵未残留的淀粉优选分离在酒糟水级分中,该级分随后蒸发以产生糖浆。通过本发明方法产生的湿饼级分,其可单独干燥以产生 DDG,并可比常规 DDG 具有更高的谷醇溶蛋白(如玉米醇溶蛋白)。本发明方法允许改变糖浆和湿饼的混合比。这产生具有不同比率的谷醇溶蛋白(如玉米醇溶蛋白)和残留淀粉的 DDG/DDGS。当湿饼中残留淀粉减少,湿饼中蛋白质就增加。此指示一种反向关系。类似的效应发生在糖浆级分中。

[0134] 淀粉被认为可分离入液体级分中。DDGS 中的淀粉量可通过在干燥前或干燥期间不同的时间以每磅湿饼固形物 0 磅糖浆固形物干重至 1.2 磅糖浆固形物的比率混合糖浆而改变,从而产生最终的 DDGS 产品。残留淀粉不成比例的分离入回糟或酒糟水级分时可提供对这些级分进行上述烧尽和二次发酵。由于酒糟水蒸发产生糖浆,离心的质物料平衡也使得能根据所需特性及根据 DDGS 生产对  $T_g$  的依赖性而产生具有不同  $T_g$  值的 DDGS。

#### [0135] 排放

[0136] 本发明具有排放优势。排放优势引起乙醇制造过程中所产生的副产物减少。在来自谷粒胚芽级分的糖化醪中油和脂的提取显著减少。一般在蒸煮和液化期间形成的美拉德反应的副产物减少。且还有发酵副产物的减少。这些现象引起联产品回收期间排放物的减少。挥发性有机物(VOC)、一氧化碳(CO)、氧化氮化合物( $NO_x$ )、二氧化硫( $SO_2$ )及其他排放物的浓度和排放速率显著降低,参见表 1。需要指出的是其它制造商试图通过生产湿饼代替干燥成 DDG 或 DDGS 而减少排放。

[0137] 本发明还涉及挥发性有机化合物(VOC)如由干燥发酵产物而产生的挥发性有机物(VOC)。本发明方法包括生产相比常规方法产生较低 VOC 水平的乙醇、干酒糟和其它有用的发酵产品。例如,本发明方法中干燥蒸馏产物(例如,用过的谷物)产生水平降低的 VOC。

[0138] 例如,利用玉米的常规发酵方法按每吨加工的玉米计从干燥蒸馏产物中产生约 2.1 磅 VOC。实际的烟囱排放量可因污染控制设备而更低。本发明方法产生至少 30% VOC 产量的减少,至每吨加工的玉米约 1.47 磅或更低。该排放物的减少是出乎意料的却是非常有意义的,而且使得排放物减少控制技术如热氧化剂得以更有效的利用。

[0139] 由发酵过程产生的 VOC 包括乙醇、乙酸、甲醛、甲醇、乙醛、丙烯醛、糠醛、乳酸、蚁酸和甘油。

[0140] 本发明还涉及如由干燥发酵过程的产物而产生的一氧化碳(CO)。本发明方法包括生产相比常规方法产生较低 CO 水平的乙醇、干酒糟和其它有用的发酵产品。例如,本发明方法中干燥蒸馏产物(例如,用过的谷粒)产生水平降低的 CO。

[0141] 例如,利用玉米的常规发酵方法按每吨加工的玉米计从干燥蒸馏产物中产生约 1.4 磅 CO。实际的烟囱排放量可因污染控制设备而更低。本发明方法产生 30% CO 产量的减少,达到每吨加工的玉米约 0.98 磅或更低。该排放物的减少是出乎意料的而且非常有意义,且使得排放物减少控制技术,如热氧化剂得到更有效的利用。

[0142] 表 1:排放物的减少



[0143]

排放物类型		单位	常规运作	本发明的方法	排放物减少%
VOC	浓度	ppmv lb/dscf	663	459.65	30.67
	排放速率	lb/hr	13.35	7.91	40.75
CO	浓度	ppmv lb/dscf	434	234.13	46.05
	排放速率	lb/hr	9.1	4.94	45.71

[0144] 本发明可根据下列实施例而更好地理解。这些实施例意图代表本发明具体的实施方案，而并不试图限制本发明的范围。

### 实施例

[0145] 实施例 1- 从玉米生产改良的干酒糟

[0146] 使用本发明的方法从玉米生产干酒糟。该方法产生高蛋白、高脂肪和高纤维的干酒糟。与常规的糖化和液化方法的比较显示了本发明方法的优良性能。

[0147] 材料和方法

[0148] 生淀粉发酵

[0149] 通过向 400ml 包含 70 克麦芽糖糊精的釜馏物中添加葡糖淀粉酶 (0.088ml Novozyme' s Spirizyme plus 葡糖 - 淀粉酶 400AGU/g) 和蛋白酶 (0.018ml Genencor International' s GC106 蛋白酶 1000SAPU/g) 而制备酵母接种物。由先前常规淀粉发酵或生淀粉发酵通过馏出乙醇以及将所得整个釜馏物离心分离以产生回糟而制备所用的釜馏物 (回糟)。另外添加 1.07 克尿素、0.13 克硫酸锌以及 0.00067ml 1 : 1000 稀释的抗生素 (Alltech Lactocide. [量?] 毫克)。将约 300-400 百万细胞 / 毫升酵母 (酿酒酵母) 活细胞 (0.48g Fleischmann' s Fali 酵母) 加入混合物且在 90° F 孵育温度下不经搅拌或摇动进行 8 小时增殖。在温和条件下周期性地旋动烧瓶以进行内容物的混合。将所得的酵母培养物 (10.8ml) 直接加至每个发酵罐用于接种。

[0150] 玉米从谷物种子 (seed corn) 的商业供应商处获得且在发酵前利用锤磨机研磨通过 0.5mm 的筛子。比较了几种常规 2 号黄色马齿种玉米品种, 且在一些试验中还测试了其等基因蜡质种玉米对等物。测试不同的玉米品种以证实本发明方法利用各种玉米杂种均可以产生改良的 DDG。

[0151] 在约 225 毫升水中混合大约 129 至 134 克适当的玉米。面粉 (磨碎的玉米) 的实际克数和水体积针对每个发酵罐以面粉的含水量为基础进行调节以使所有的发酵在大约每 100 克水 33.4 克干玉米固体 (33.4% DSC) 下进行。所有生淀粉发酵罐用硫酸调节至 pH 5.0。

[0152] 发酵在 82° F 进行。将抗生素 (Alltech Lactocide. 3 毫克) 加入每个发酵批次。

生淀粉发酵使用市场上可买到的葡糖淀粉酶制剂 (Novozyme s' Spirizyme plus 0.317 毫升 GAU/ 毫升), 其中该制剂还含有酸性真菌淀粉酶活性。

[0153] 发酵进行 72 小时, 以大约 24 (例如, 25) 小时为间隔采样。所有样品经 HPLC 分析。发酵结束时发酵醪样品置于金属锅中, 将 pH 降至 < 3.5 以灭活残留的酶活性并且干燥。

[0154] 常规发酵

[0155] 按如上所述用于生淀粉发酵的方式进行酵母接种物的制备以及将玉米研磨成玉米面粉。

[0156] 对于使用常规方法的发酵, pH 调节是不必要的; 水和玉米面粉的天然 pH 为 5.8 至 6.0。常规发酵以糖化或蒸煮阶段起始, 以液化混合物中的淀粉。蒸煮阶段在 85°C 进行 60 分钟。加入 0.044 毫升 Novozymes Liquozyme SC  $\alpha$ -淀粉酶 (0.044 毫升 Novozymes Liquozyme SC 120AFU(KNU)/ml) 以液化玉米糖化醪。

[0157] 常规发酵也在 82° F 进行且包含抗生素 (3 毫克 Alltech Lactocide 抗生素)。利用常规方法将蛋白酶 (0.0047 毫升 GC 106 蛋白酶 (1000SAPU/g/ml) 以及 0.64 毫升 50% 的尿素溶液 (50% 工业级尿素) 加至发酵罐。加入市场上可买到的葡糖淀粉酶 (0.095 毫升 Genencor International' s GC 480 葡糖淀粉酶 400AGU/ml) 用于发酵。在其它方面, 发酵按如上所述用于生淀粉发酵的方式进行。

[0158] 结果和讨论

[0159] 发酵结果列于表 1 中且总结在表 2 中。

[0160] 表 1A: 比较方法对 DDGS 的组分分析 (proximate analysis) 的影响

[0161]

玉米杂种	残留的糖 葡萄糖 (%)		% 酸 乳酸&醋酸	
	Conv	RSH	Conv	RSH
# 2 黄色杂种 A	2.57	0.58	0.09	0.06
# 2 黄色杂种 B	1.67	0.84	0.09	0.06
杂种 B 的蜡质种等基因对应物	1.70	2.11	0.10	0.06
# 2 黄色杂种 C	1.18	0.62	0.08	0.06
杂种 C 的蜡质种等基因对应物	1.43	1.49	0.10	0.07
# 2 黄色杂种 D	0.84	0.49	0.06	0.05
杂种 D 的蜡质种等基因对应物	0.58	0.89	0.06	0.07
蜡质种杂种 E	1.15	0.50	0.10	0.06
# 2 黄色杂种 F	1.86	0.61	0.11	0.07
蜡质种杂种 G	1.23	0.97	0.12	0.09
杂种 G 的不同蜡质种等基因对应物	1.14	0.39	0.10	0.07
平均值	1.40	0.86	0.09	0.07

[0162] 表 1B :比较方法对 DDGS 的组分分析的影响

[0163]

玉米杂种	%甘油		%淀粉		%蛋白质		%脂肪		%NDF	
	Conv	RSH	Conv	RSH	Conv	RSH	Conv	RSH	Conv	RSH
# 2 黄色杂种 A	1.09	0.86	6.86	22.24	31.25	32.15	11.05	13.65	20.45	29.00
# 2 黄色杂种 B	1.12	0.77	2.78	21.14	31.90	33.20	13.30	17.00	24.90	32.30
杂种 B 的蜡质种等 基因对应物	1.11	0.75	1.97	14.35	31.10	30.40	14.30	16.40	25.30	34.10
# 2 黄色杂种 C	1.20	0.85	1.68	17.51	31.50	33.80	15.00	21.30	22.00	31.00
杂种 C 的蜡质种等 基因对应物	1.13	0.82	1.79	9.92	30.00	29.70	15.20	17.10	24.60	37.40
# 2 黄色杂种 D	1.03	0.74	0.83	14.61	36.40	37.60	11.90	14.80	23.40	28.90
杂种 D 的蜡质种等 基因对应物	1.06	0.78	1.11	3.39	33.30	34.20	12.80	15.70	24.60	31.70
蜡质种杂种 E	1.11	0.76	0.65	1.90	35.60	35.90	11.60	13.30	26.90	29.90
# 2 黄色杂种 F	1.17	0.78	3.27	15.99	31.80	31.10	12.50	13.30	28.10	33.10
蜡质种杂种 G	1.11	0.84	10.49	1.04	39.70	41.10	12.10	14.00	20.30	23.70
杂种 G 的不同蜡质 种等基因对应物	1.05	0.84	12.15	13.74	36.60	38.90	8.96	10.90	20.80	26.50
平均值	1.11	0.80	3.96	12.35	33.56	34.37	12.61	15.22	23.76	30.69

[0164] 表 2 :比较方法对 DDGS 的组分分析的影响 (总结)

[0165]

组分分析	方法	
	常规	生淀粉
淀粉	3.96	12.35
蛋白质	33.56	34.37
脂肪	12.61	15.22
纤维	23.76	30.69
灰分	4.06	4.29
未知	22.05	3.08
总计	100.00	100.00

[0166] 该生淀粉方法的有趣特征为其产生具有相等或更高水平的几种组分的干酒糟加可溶物 (DDGS), 即使按残留的淀粉测定, 该生淀粉方法的发酵效率似乎是降低的。根据物料平衡, 可以预期伴随较低的效率, DDGS 的其他组分将是较低的。该生淀粉方法似乎引起对谷物组分更小的破坏。

[0167] 该生淀粉方法的另一有趣特征是利用蜡质种玉米杂种实现的性能改良。蜡质种玉米几乎全部由支链淀粉组成, 而正常的 #2 黄色玉米为大约 25 至 28% 的直链淀粉且其余为支链淀粉。由于相比常规的玉米, 蜡质种玉米有高的最大粘度以及更快速率的粘度发展, 故其通常不用于常规方法中。高的初始粘度使得玉米浆在最初的主要高温液化期间更难泵送。然而蜡质种玉米品种可以容易地用于本发明方法。由于未使用蒸煮阶段, 该高的最大粘度并不构成处理问题。

#### [0168] 实施例 2- 本发明方法提供改善的产量潜力

[0169] 与常规方法比较了本发明方法的产量潜力。本发明方法利用温度分段表现出改善的产量。本发明方法表现出提高的潜在最大乙醇生产产量。与常规的糖化和液化方法的比较显示了本发明方法的优良性能。

#### [0170] 材料和方法

[0171] 除了粒度、 $\alpha$  淀粉酶剂量、葡糖 - 淀粉酶剂量或酸性真菌淀粉酶剂量的有意区别外, 以实施例 1 类似的方式准备发酵。实验条件在表 3 中描述。所有测试的玉米从 Broin Enterprises (BEI)、Scotland、South Dakota、USA 获得。玉米在 BEI 研磨, 以生淀粉标准来代表粗粒度。细磨的玉米利用实验室的锤磨机经 0.5mm 筛子产生。

[0172] 所用的常规方法利用所示水平的 Liquozyme SC 和 GC 480。所用的生淀粉方法使用所示水平的 Spirizyme Plus 和 SP 288 酸性真菌淀粉酶 (每克 1700AFU)。针对常规方法相应地调节尿素溶液、硫酸锌和抗生素的剂量。由先前常规发酵或生淀粉发酵通过馏出乙醇以及将所得整个釜馏物离心分离以产生回糟, 而制备所用的釜馏物 (回糟)。发酵温度根据以下设定点分段: 0-18 小时 90° F、18-42 小时 86° F 以及 42-72 小时 82° F。在 65 小时采样以代表发酵结束。

#### [0173] 结果和讨论

[0174] 这些实验的目的在于说明两方法对酶供给速率改变的敏感度以及比较乙醇%和

残留淀粉的差异。结果列于表 3 和图 1A、1B、1C、1D 和 1E。粉碎度和酶剂量对两方法的影响是明显的。需要指出的是 SP 288 酸性真菌淀粉酶可以有效地使用生淀粉。酸性真菌淀粉酶看来提高了利用淀粉的能力,这使得 SP 288 存在时粉碎度对产量具有较小的影响。本发明方法在相等或更高的残留淀粉水平上达到了显著更好的乙醇产量。图 1B 说明了常规方法中粉碎度对乙醇产量的类似影响,并证实了 GA 剂量水平对于获取粗谷粒中的淀粉的重要性。

[0175] 图 1A 和 1B 中针对常规方法和生淀粉方法显示的至零残留淀粉的结果外推揭示了生淀粉方法的一个实施方案。随着残留淀粉水平基于提高的转化效率而降低,该方法可比常规方法达到更高的乙醇%。例如,无残留淀粉存在时,本实施例中的本发明方法将产生 21.3% 体积的乙醇,而常规方法仅产生 20.6% 体积的乙醇,该提高是显著的。本发明方法相比现有方法的工艺潜力在图 1C 和 1D 中显示。这些图概括了两种方法在不同的粉碎度和酶剂量组合下运行的结果。图 1C 举例说明了新方法比常规方法产生更多乙醇的潜力,即使当残留淀粉水平更高时也如此。常规知识提示生淀粉方法由于更高水平的残留淀粉而将是更低效率的,然而事实不是这样的。本发明方法优于常规方法。需要指出的是还可通过检验发酵滴固形物 (drop solids) 而评价发酵效率。这在图 1D 中以两方法相比较的组合数据显示。由于上述实施例中所有发酵以同样的初始设定的固形物起始,故较低的滴固形物提示淀粉到乙醇的更有效的转化。本发明方法的潜力还可以通过达到相等或降低水平的滴固形物而说明,尽管观察到较高的残留淀粉。

[0176] 图 1E 显示本发明方法期间温度的分段。发酵温度根据以下设定分段:0-18 小时大约 90° F(从约 95° F 至约 90° F)、18-42 小时大约 86° F(从 90° F 至 86° F) 以及 42-72 小时约 82° F(从 86° F 至 84° F)。温度的分段通过降低对酵母的胁迫而有助于提高乙醇的生产过程。当乙醇产生时降低温度,以减少乙醇产生导致的对酵母的胁迫。

[0177] 表 3:常规方法与生淀粉方法的产量潜力对比

[0178]

常规发酵方法									
研磨 采用的	酶剂量		工艺用水量		玉米 面粉 Wt. %	浆 干 固体	AA 剂量	乙醇 体 积 %	残余淀 粉干 重 %
	AA (ml)	GA (ml)	水 (ml)	回糟 %					
BEI	0.04	0.08	285	40	190	35.91	低	16.21	19.49
BEI	0.04	0.12	285	40	190	35.89	低	17.57	14.69
BEI	0.06	0.08	285	40	190	35.90	中	16.22	15.14
BEI	0.06	0.12	285	40	190	35.89	中	17.12	14.03
BEI	0.08	0.08	285	40	190	35.89	高	15.93	16.72
BEI	0.08	0.12	285	40	190	35.88	高	17.47	12.78
0.5mm	0.04	0.08	295	40	176	35.85	低	16.78	15.64
0.5mm	0.04	0.12	295	40	176	35.83	低	18.40	9.58
0.5mm	0.06	0.08	295	40	176	35.84	中	16.57	15.77
0.5mm	0.06	0.12	295	40	176	35.83	中	18.19	10.36
0.5mm	0.08	0.08	295	40	176	35.83	高	16.92	16.48
0.5mm	0.08	0.12	295	40	176	35.82	高	18.31	9.27

[0179]

研磨 采用的	酶剂量		工业用水 量		玉米 面粉 Wt. %	浆 干 固体	GA 剂量	乙醇 体 积 %	残余淀 粉干 重 %
	AA (ml)	GA (ml)	水 (ml)	回槽 90					
BEI	0.00	0.34	285	40	190	36.35	低	17.53	22.37
BEI	0.03	0.34	285	40	190	36.35	低	19.19	14.45
BEI	0.00	0.42	285	40	190	36.32	中	17.82	19.65
BEI	0.03	0.42	285	40	190	36.32	中	19.14	11.15
BEI	0.00	0.53	285	40	190	36.28	高	18.11	19.83
BEI	0.03	0.53	285	40	190	36.28	高	19.13	12.80
0.5mm	0.00	0.34	295	40	176	36.31	低	18.20	19.30
0.5mm	0.03	0.34	295	40	176	36.31	低	19.22	13.54
0.5mm	0.00	0.42	295	40	176	36.28	中	18.51	17.24
0.5mm	0.03	0.42	295	40	176	36.28	中	19.56	10.50
0.5mm	0.00	0.53	295	40	176	36.24	高	18.75	16.38

[0180]

筛子 大小 (mm)	No. 12	No. 16	No. 20	No. 25	No. 30	No. 35	总体 (pan)	筛号
	1.70mm	1.18mm	0.85mm	0.71mm	0.60mm	0.50mm		<0.50mm
BEI 研磨	0.02	0.26	2.53	7.91	12.14	20.80	54.96	占总体的 百分比
0.5mm	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	

[0181]

工艺	AA	GA
常规	Liquozyme SC	GC480
生淀粉	SP288	Spirizyme Plus

[0182] 实施例 3- 使用增加的酸性真菌淀粉酶水平和增加的葡糖淀粉酶水平, 本发明方法显示出改善的结果

[0183] 用增加的酸性真菌淀粉酶水平和增加的葡糖淀粉酶水平评估本发明的方法的一个具体实施方式的结果。增加的酸性真菌淀粉酶水平改善了本发明的结果。增加的葡糖淀粉酶水平改善了本发明的结果。

[0184] 材料和方法

[0185] 以类似于实施例 2 的方式在生淀粉发酵中使用更粗的研磨测试葡糖淀粉酶 (Novozymes Spirizyme Plus) 和酸性真菌淀粉酶 (Novozymes SP 288)。

[0186] 结果和讨论

[0187] 本测试的目的为检验葡糖淀粉酶和酸性真菌淀粉酶剂量范围对从生淀粉水解发酵生产乙醇及其他产品的影响。具体地, 酸性真菌淀粉酶高于 0.3AFAU 每克干玉米固形物

的剂量和超过 0.3AGU 每克干玉米固形物的剂量导致更高的乙醇和相应地更高的残余葡萄糖。一贯较高的葡萄糖显示这些发酵有生产甚至更高的乙醇产量的潜能。

[0188] 这些结果提示葡糖淀粉酶和酸性真菌淀粉酶协同作用以接近生淀粉和将淀粉转换为可发酵糖。参见图 2A、2B 和 2C。

[0189] 实施例 4- 研磨或减小谷物颗粒大小对发酵效率的影响

[0190] 通过改变研磨的植物材料的颗粒大小评估本发明的方法的具体实施方式的结果。较小的颗粒大小改善了本发明方法的结果。

[0191] 材料和方法

[0192] 施行一系列的实验室规模的锤磨机粉碎,以生产从大粒度到相对细粒度的面粉。以与实施例 2 类似的方式建立生淀粉发酵。通过实验室锤磨机研磨用作底物的玉米面粉,以通过 0.5mm、2.0mm 和 2.4mm 孔的筛子。该测试条件列于表 4。

[0193]

表 4: 粉碎度和葡萄糖淀粉酶剂量对发酵效率的影响

粉碎度 (mm)	过筛结果							总体	颗粒	
	No. 12	No. 16	No. 20	No. 25	No. 30	No. 35	大小 (mm)		标准筛号	
	1.70	1.18	0.85	0.71	0.60	0.50	<0.50	Wt. Avg.	筛孔 (mm)	
Lab 0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0			
Lab 2.0	0.0	0.0	1.0	3.6	2.0	9.0	85.0			
Lab 2.4	0.1	0.4	2.1	5.7	2.4	15.0	72.8			

锤磨机 粉碎度 (mm)	酶剂量 AGU' s 每 克 DSC	通过 HPLC 测定的 24 小时发酵结果										
		残余碳水化合物重量 %					副产品重量 %			总固形 物 %	残余淀 粉 % dw	
		乙醇体 积 %	DP4+	DP3	麦芽糖	葡萄糖	果糖	甘油	乳酸			乙酸
0.5	1.0	13.47	0.37	0.02	ND	0.03	0.15	0.92	0.05	ND	19.6	
2.0	1.0	12.68	0.36	0.02	ND	0.03	0.08	0.94	0.05	ND	18.9	
2.4	1.0	12.71	0.37	0.02	ND	0.03	0.14	0.95	0.05	ND	18.9	
0.5	1.5	14.15	0.39	0.02	ND	0.04	0.08	0.91	0.05	ND	17.9	
2.0	1.5	13.72	0.37	0.02	ND	0.04	0.08	0.93	0.05	ND	17.8	
2.4	1.5	13.86	0.38	0.02	0.01	0.05	0.08	0.94	0.05	ND	17.3	



[0194]

通过 HPLC 测定的 48 小时发酵结果

锤磨机 粉碎度 (mm)	酶剂量 AGU's 每 克 DSC	乙醇体 积%	残余碳水化合物重量%						副产品重量%				总固形 物%	残余淀 粉% dw
			DP4+			DP3			果糖	甘油	乳酸	乙酸		
			DP4+	麦芽糖	葡萄糖	葡萄糖	麦芽糖	DP3						
0.5	1.0	17.73	0.38	0.02	0.02	0.02	0.10	1.05	0.06	ND	14.3			
2.0	1.0	17.31	0.38	0.02	0.02	0.02	0.10	1.09	0.06	ND	14.5			
2.4	1.0	17.10	0.38	0.02	0.02	0.02	0.10	1.08	0.06	ND	15.0			
0.5	1.5	18.36	0.42	0.03	0.02	0.03	0.09	1.05	0.05	ND	13.0			
2.0	1.5	18.23	0.40	0.02	0.02	0.02	0.08	1.09	0.06	ND	13.6			
2.4	1.5	18.14	0.41	0.02	0.02	0.02	0.09	1.07	0.06	ND	13.6			

通过 HPLC 测定的 72 小时发酵结果

锤磨机 粉碎度 (mm)	酶剂量 AGU's 每 克 DSC	乙醇体 积%	残余碳水化合物重量%						副产品重量%				总固形 物%	残余淀 粉% dw
			DP4+			DP3			果糖	甘油	乳酸	乙酸		
			DP4+	麦芽糖	葡萄糖	葡萄糖	麦芽糖	DP3						
0.5	1.0	18.99	0.40	0.02	0.02	0.05	0.10	1.10	0.06	ND	12.5	8.99		
2.0	1.0	18.42	0.38	0.02	0.01	0.05	0.10	1.13	0.06	ND	12.8	11.34		
2.4	1.0	18.54	0.39	0.02	0.02	0.05	0.10	1.14	0.06	ND	12.7	17.48		
0.5	1.5	19.05	0.42	0.03	0.02	0.05	0.09	1.08	0.05	ND	11.8	6.81		
2.0	1.5	18.78	0.40	0.02	0.02	0.05	0.09	1.11	0.06	ND	12.0	7.07		
2.4	1.5	18.69	0.40	0.02	0.02	0.05	0.09	1.09	0.06	ND	12.2	8.72		

[0195] 结果和讨论

[0196] 结果列于表 4 和图 3A、3B、3C、3D。该数据说明较小的研磨粒度提供了较高的乙醇

产量和较低的残余淀粉。在较低的葡糖淀粉酶剂量下,粉碎度是更大的影响因素。当研磨物的颗粒大小增加时,需要更高的酶剂量来实现相同的相对结果。

[0197] 实施例 5- 粉碎度、葡糖淀粉酶类型和酸性真菌淀粉酶剂量对发酵效率的影响

[0198] 通过改变研磨的植物材料的颗粒大小、改变葡糖淀粉酶类型和酸性真菌淀粉酶的剂量评估本发明的方法的具体实施方式的结果。

[0199] 材料和方法

[0200] 从 Wentworth S. D. 的 Dakota Ethanol LLC 获得全部玉米和玉米面粉。如在先的实施例中所述方法使用实验室规模的锤磨机研磨全部玉米,以通过 2.0mm 筛。按照表 5 以与在先的实施例类似的方式建立发酵。

[0201]

表 5: 粉碎度、葡萄糖淀粉酶类型和酸性真菌淀粉酶剂量对发酵效率的影响

筛子大小 (mm)	No. 12	No. 16	No. 20	No. 25	No. 30	No. 35	总体 孔大小 (mm)
	2.0 mm	1.70	0.2	0.85	0.71	0.60	
植物锤磨机 # 7	10.2	18.9	14.0	7.4	3.8	7.9	38.1
							“精细研磨物” “粗糙研磨物”

实施例 5 实验概括									
每克 DSC 的 AFAU 剂量 来自 SP288 来自 GA 总 AFAU					每克 DSC 的 AGU 活性 来自 GA 总 AGU' s				
SP288 单位/克 DSC	GA 单位/克 DSC	总 AFAU 单位/克 DSC	SP288 单位/克 DSC	GA 单位/克 DSC	总 AGU' s 单位/克 DSC	面粉 研磨	采用的 L- 400 GA	发酵罐 #	
0	0.20	0.20	0.00	1.10	1.10	较精细	Spirizyme+	1	
0.20	0.20	0.39	0.02	1.10	1.12	较精细	Spirizyme+	2	
0.59	0.20	0.78	0.05	1.10	1.15	较精细	Spirizyme+	3	
0.00	0.20	0.20	0.00	1.10	1.10	较粗糙	Spirizyme+	4	
0.20	0.20	0.39	0.02	1.10	1.12	较粗糙	Spirizyme+	5	
0.59	0.20	0.78	0.05	1.10	1.15	较粗糙	Spirizyme+	6	
0.00	0.08	0.20	0.00	1.10	1.10	较精细	Distillase	7	
0.20	0.08	0.39	0.02	1.10	1.12	较精细	Distillase	8	
0.59	0.08	0.78	0.05	1.10	1.15	较精细	Distillase	9	
0.00	0.08	0.20	0.00	1.10	1.10	较粗糙	Distillase	10	
0.20	0.08	0.39	0.02	1.10	1.12	较粗糙	Distillase	11	
0.59	0.08	0.78	0.05	1.10	1.15	较粗糙	Distillase	12	

[0202]

发酵罐#	%乙醇	72小时结果											残余淀粉% dw
		残余碳水化合物重量%						副产品重量%			总固形物%		
		DP4+	DP3	麦芽糖	葡萄糖	果糖	甘油	乳酸	乙酸				
1	17.84	0.36	0.01	0.01	0.01	0.12	0.89	0.07	ND	15.31	17.09		
2	18.17	0.36	0.01	0.01	0.01	0.12	0.89	0.06	ND	15.12	16.53		
3	18.57	0.36	0.01	0.01	0.02	0.12	0.90	0.06	ND	14.72	16.31		
4	19.46	0.45	0.02	0.03	0.28	0.16	0.92	0.04	ND	14.36	15.14		
5	19.65	0.44	0.02	0.04	0.57	0.17	0.92	0.04	ND	14.49	14.97		
6	19.74	0.42	0.01	0.04	0.59	0.19	0.90	0.04	ND	14.40	13.81		
7	14.42	0.37	0.01	0.01	ND	0.05	0.65	0.16	ND	20.24	36.27		
8	15.89	0.37	0.01	0.01	ND	0.10	0.77	0.07	ND	16.68	27.24		
9	17.25	0.37	ND	0.01	0.01	0.11	0.86	0.06	ND	15.97	20.43		
10	17.19	0.46	0.01	0.01	0.01	0.10	0.80	0.05	ND	18.19	31.43		
11	18.35	0.44	0.01	0.01	0.03	0.14	0.87	0.05	ND	16.16	24.07		
12	19.30	0.42	0.01	0.01	0.06	0.15	0.92	0.05	ND	14.95	18.01		

[0203] 结果和讨论

[0204] 最后的发酵结果示于图 4A、4B 和 4C。常规的葡糖淀粉酶例如来自 Genencor

International 的 Distillase 含有极低水平的酸性真菌淀粉酶活性。Spirizyme Plus 包含每 ml 酶大约 2.5 倍的 AFAU 活性,并显示出水解生淀粉的改良性能。SP 288 酸性真菌淀粉酶含有相对低水平的葡糖淀粉酶。

[0205] 可以获得对粉碎度、葡糖淀粉酶剂量水平和酸性真菌淀粉酶剂量水平对发酵性能的重要性的理解。当“更加精细的”研磨与含有提高的酸性真菌淀粉酶水平的葡糖淀粉酶结合时获得了改善的结果。当较粗糙地研磨时,高剂量水平的包含酸性真菌淀粉酶的葡糖淀粉酶产生了改善的发酵性能。随着研磨物粒度减小,包括酸性真菌淀粉酶的葡糖淀粉酶提供了益处。

[0206] 实施例 6- 发酵罐干固形物加载量和温度对发酵罐动力学和乙醇性能的影响

[0207] 采用本发明的具体实施方式由玉米生产乙醇。该方法产生了高乙醇玉米发酵醪,高蛋白、高脂肪和高纤维干酒糟。与传统的糖化和液化法的对比表明了本发明方法性能的优越性。

[0208] 材料和方法

[0209] 除初始的发酵固形物及温度按结果呈现时描述的改变外,按照与在先的实施例类似的方式建立实施例 6。

[0210] 结果

[0211] 本发明生淀粉发酵方法的一个有趣的特征是通过增加发酵的固体物含量或起始温度能够提高发酵速率。固形物载量、温度、粉碎度、葡糖淀粉酶剂量、酸性真菌淀粉酶剂量和酵母剂量能够相结合而增加生淀粉发酵的性能。图 5A、5B、5C、5D、5E、5F、5G、5H、5I 和 5J 说明了不同的固形物如载量下温度的影响。

[0212] 本实施例报道的残余淀粉值提示可采用温度改善中间发酵比重下生淀粉发酵的效率,其中中间发酵比重定义为可生产 15%到 18%乙醇的发酵固形物水平。该发酵温度可用于加速生淀粉发酵,使它们在不足 48 小时内结束,然而仍然达到 15%到 18%的乙醇水平,并具有可接受的残余淀粉水平。该增加的发酵设定值有助于加速天然生淀粉向葡萄糖的酶学转化,该转化似乎是生淀粉方法的限速步骤。应用较高温度设定值的发酵性能是本发明方法针对中间乙醇范围的一个方面,当从在先实施例的视角考虑时尤其如此,在先的实施例确立了生淀粉发酵能够在残留干酒糟及干酒糟加可溶物中耐受较高水平的残余淀粉,并且按照组分分析仍然产生优等质量的 DDG 或 DDGS。另外,生淀粉发酵的干物质能够增加大约 20%以提高发酵速率,同时在发酵罐中产生更高乙醇含量和具有优等质量的更多 DDGS,即便残余淀粉水平高也如此。通过平衡上述的观点,可以以显著降低的困难进行产量相对于吞吐量 (throughput) 的经济优化。通过生淀粉方法显著地提高了运行高比重、高吞吐量的工艺并生产适销的 DDGS 的便利性。

[0213] 实施例 7- 通过本发明方法的乙醇生产的有益方面

[0214] 实施了各种发酵,并评估和汇编了结果以显示本发明方法增加了乙醇产量和干酒糟的产量。

[0215] 乙醇生产量

[0216] 本发明方法产生了含有乙醇的玉米发酵醪,该发酵醪具有大于 18%体积的乙醇。在 48 到 96 小时的孵育和发酵中生产了至少 18%体积的乙醇和直至 23%体积的乙醇。发酵醪含有这些高水平的乙醇,即便当它也包含较高水平的残余淀粉时也如此。在 24 小时的

孵育和发酵后,玉米发酵醪含有 9-16.5%或 12-15%体积的乙醇。48 小时的孵育和发酵后,玉米发酵醪含有 13-20%体积的乙醇。乙醇生产是线性的,达到 14-16%体积的水平。整理的由不同的运行产生的乙醇产量结果至少在图 6A 和 6B 中说明。

[0217] 本发明发酵醪含有比在相等的其它发酵条件下实施的常规发酵少大约 0.4 到 0.5%重量的甘油(图 7)。本发明发酵醪含有较少的来自胚芽级分的萃取油,导致在残余动物饲料产品的干燥期间降低的淤塞和水蒸气中较低的 VOC 散发(表 1)。该发酵醪含有较少的来自胚芽级分的萃取油,导致在残余动物饲料产品的干燥期间降低的淤塞和水蒸气中较低的 CO 散发。该发酵醪含有较少的杂醇油(图 8),如果这些醇化合物无意地在蒸馏侧线汽提塔下残液流中再循环,将抑制酵母细胞生长和发酵。

[0218] 杂醇油也是一种饮用醇制造过程中的不希望有的组分,因此本发明方法提供了一种改进的饮用醇生产方法。该发酵醪相对于常规方法也含有较少的乳酸和乙酸。该发酵醪也含有较高的酵母细胞数,这有助于改进饲料产品。

[0219] 另外,本发明方法在这些众多的运行中,保持了酵母在 300 细胞/mL 或以上。在孵育和发酵的 0-20 小时在至少 40%酵母中观察到酵母出芽和/或在孵育和发酵 60 小时后在至少 15-20%酵母中观察到酵母出芽。这些酵母细胞数和出芽比在常规方法中观察到的更高。

[0220] 实施例 8- 本发明方法维持低水平的葡萄糖、麦芽糖 (DP2)、麦芽三糖 (DP3) 和糊精 (DP4+)

[0221] 将本发明的具体实施方式生产的葡萄糖、麦芽糖 (DP2)、麦芽三糖 (DP3) 和糊精 (DP4+) 的水平与常规方法相比。本发明方法分别显示出减小水平的葡萄糖、麦芽糖 (DP2)、麦芽三糖 (DP3) 和糊精 (DP4+)。与常规方法的葡萄糖水平的对比表明了本发明方法的优越性能。

[0222] 材料和方法

[0223] 实验 1

[0224] 从 Wentworth, S. D. 的 Dakota Ethanol LLC 中获得全部玉米和玉米面粉。将用于连续乙醇发酵实施例的全部玉米如在先的实施例所述使用实验室规模的锤磨机研磨通过 0.5mm 筛。将用于 SSF 实施例的全部玉米使用工业规模的 Bliss 锤磨机研磨通过 #4 筛,如在面粉的过筛试验中所测量的,这使得大约 50%的研磨面粉通过 0.5mm 的筛子。

[0225] 以与实施例 1 类似的方式建立分批发酵。在由冷浆槽及随后的五个 (5) 发酵罐组成的实验室台上系统 (bench top system) 中评估连续的乙醇发酵,该系统以连续的模式运行,并以发酵池收集成熟醪而结束。各发酵阶段的体积大约为两 (2) 公升。当以 1.5 到 2.0ml 每分钟的糖化醪流速运行时,平均发酵时间为大约九十六 (96) 小时。平均发酵罐充填固形物为大约 30-35%干玉米固形物,这取决于此底物的淀粉含量。每 3 到 4 天制备用于发酵加料的糖化醪浆,并维持在 6 到 12 摄氏度之间,以阻止给料槽内的细菌生长。

[0226] 糖化醪制备程序没有在发酵之前对糖化醪灭菌,并且该发酵系列的运行没有添加抗生素防止细菌性污染物。糖化醪在低温保存,以减少底物准备所需的工作量。向该冷浆槽加入 15 到 20ml 的 50%尿素液体,最终具有大约 9000 公升的糖化醪体积。

[0227] 在此连续系列中每个发酵罐从前面的发酵罐进料,而第一个发酵罐直接从冷浆槽进料。在五个 (5) 阶段的发酵中发酵温度控制在恒定的 82° F。将葡糖淀粉酶加入第一个

发酵罐,提供大约 2.0 到 2.4AGU 每克干燥玉米物质的剂量。以大约 0.65 克每公升浆添加率加入从 Fleischmann's Yeast 获得的 Fali 酵母,并且每次制备新鲜糖化醪时按批加入冷浆中。

#### [0228] 实验 2

[0229] 使用如上所述的实验 1 的步骤建立连续发酵。在此连续的多阶段发酵方法的过程中于不同时间和阶段进行乳酸和乙酸测量。接近发酵结束,如图所示的有意地将初始浆的 pH 增加,以在微生物学方面攻击系统。在一些情况下,浆的 pH 间歇地被降低以阻止污染(例如参见图 16A、16B 和 16C)。

#### [0230] 实验 3

[0231] 从实施例 1、2 和 8 中描述连续发酵系统实例中获得实验 3 中的数据。使用可购买得到的淀粉测定法(Megazyme®淀粉测定法)测量残余淀粉。该测定法可以检测淀粉含量为从 0-100%范围的样本,从而使其可应用于原谷物的淀粉测定以及残余淀粉分析。该方法是一种基于酶学转化的测定法,运用  $\alpha$  淀粉酶和淀粉葡萄糖苷酶将淀粉转换为葡萄糖,然后经由 HPLC 测量获得的葡萄糖并计算淀粉含量。

#### [0232] 结果和讨论

[0233] 图 9A 和 9B 说明本发明方法在同时糖化和发酵(SSF)及连续的生淀粉发酵期中维持低水平的葡萄糖。尽管不限制本发明,但相信此低水平的葡萄糖减少了诸如 reversion、缩合、或美拉德棕黄反应(Maillard Browning Reactions)等潜在反应,这些反应反过来能够降低乙醇产量。在本实施例中整理的数据显示本发明方法在整个运行中维持等于或低于 3%重量的葡萄糖和在大约 90%的运行中维持等于或低于 1%重量的葡萄糖。特别是从孵育和发酵的 12 到 54 小时,本发明方法维持葡萄糖在等于或低于 1%重量的水平。

[0234] 图 10-12 说明在 SSF 和连续的生淀粉发酵期间本发明方法维持低水平的糊精。图 10A 和 10B 说明在同时糖化和发酵期间本方法维持麦芽糖(DP2)在等于或低于大约 0.2%重量的水平,而在连续的生淀粉发酵期间维持麦芽糖水平低于大约 0.34%重量。图 11A 中的数据显示在同时糖化和发酵期间本方法以等于或低于 0.2%重量和等于或低于 0.1%重量的水平维持低水平的麦芽三糖(DP3)。图 11B 中的数据显示本方法在连续的生淀粉发酵期间维持等于或低于 0.25%重量的低水平的麦芽三糖(DP3)。

[0235] 图 12A 中的数据显示在同时糖化和发酵期间本发明方法以等于或低于 1%重量和等于或低于 0.5%重量的水平维持低水平的糊精(DP4+)。图 12B 中的数据显示本发明方法在连续的生淀粉系统期间维持等于或低于 0.3%重量的低水平的糊精(DP4+)。

[0236] 实验 2 的结果表明本发明方法中达到大约 5.8 的初始浆 pH 水平(图 16A)导致可接受的乙醇产量并维持酸性发酵污染物在可容许的范围内(例如,发酵不受抑制)。乳酸的百分比保持低于 0.45(在大多数情况下小于 0.35)(图 16B)。乙酸的百分比保持低于 0.18(在大多数情况下小于 0.06)(图 16C)。本发明方法的此具体实施方式导致一贯的低乳酸和乙酸水平和稳定的 pH 水平。这导致更多的乙醇产量,这至少部分可能是由于较少的酵母胁迫所引起的。

[0237] 实验 3 的结果显示由本发明方法的连续实施方式产生的残余淀粉的水平比通过常规方法产生的水平低(图 17)。采用本发明方法的此实施方式产生的残余淀粉的水平保持低于通过常规方法产生的残余淀粉的水平(图 17)。采用本发明方法的此具体实施方式

产生的淀粉百分比保持在大约 20 (例如 21) 或更少 (图 17), 而采用常规方法产生的淀粉百分比高达 27 (图 17)。

#### [0238] 讨论

[0239] 尽管不限制本发明, 但认为随着葡萄糖在发酵期间形成, 它被酵母迅速地代谢, 导致低水平的葡萄糖。在发酵末观察到的葡萄糖的微小增加提示了酵母活力的下降。再次, 不限制本发明, 这可能通过酵母活力和发酵的降低导致葡萄糖生产速率超过新陈代谢利用速率来解释 (葡萄糖发酵不再跟得上生产)。

[0240] 根据本发明的一个具体实施方式, 可以采用温度分段来使残余葡萄糖产量减到最少。也就是说发酵的温度可以随着发酵的进程而降低。据认为, 通常每增加 10°C (18° F), 酶促反应速度近似加倍。在本发明方法的一个具体实施方式中, 例如, 经过一段时间, 如 30 小时后, 可以由降低发酵混合物的温度而减慢酶促反应。据认为, 冷却也能维持酵母的活力, 因此发酵可以继续利用已经形成的葡萄糖。多阶段连续发酵工艺存在常规的商业变化形式。一个这样的常规方法包括在发酵前运行糖化作用以便为更迅速的酵母发酵提供可发酵葡萄糖。本发明方法不要求发酵之前进行糖化作用阶段, 但仍产生改善的结果。另一个常规连续工艺包括向第一个发酵罐以及可能地第二个发酵罐中通气, 以促进酵母生长。本发明方法提供了改善的结果而并不要求向发酵罐通气。一些常规连续系统使用酵母再循环方法。本发明方法不要求酵母再循环而能提供改善的结果。本发明的具体实施方式优越于这些常规连续发酵系统。本发明可以使用生淀粉的同时糖化和发酵, 并能够以高比重运行。在一个具体实施方式中, 本发明的方法能够快速生产乙醇, 尽管似乎缺乏足够的发酵底物。

[0241] 本发明方法的一个连续乙醇生产的具体实施方式在整个发酵周期维持了低酸度水平。这些实验显示使用连续发酵的本发明方法的具体实施方式产生了低的、易处理水平的乳酸和乙酸。低水平的乳酸和乙酸可能有利于维持发酵中稳定的 pH, 并且还可能减少酵母应激反应和增加乙醇的产量。

[0242] 本发明方法的连续乙醇生产的具体实施方式在整个发酵周期维持了较低的淀粉水平。将该残余淀粉水平与常规方法对比提示了本发明方法的有利性能。本发明生淀粉工艺的物料平衡提示, 相对于常规方法, 在本发明方法中残余淀粉实际上可以更高, 但仍然实现更高的乙醇产量以及改善的近似物料平衡 (proximate mass balance)。

#### [0243] 实施例 9- 本发明方法生产较少结块和压实的 DDGS

[0244] 将根据本发明的一个具体实施方式的 DDGS 与由常规方法生产的相比。本发明方法生产出与常规方法生产的 DDGS 相比显示出较少结块的有创造性的 DDGS。该较少结块的 DDGS 优于常规 DDGS。

#### [0245] 材料和方法

[0246] DDGS 作为常规高温液化方法和本发明方法的乙醇生产的联产品被收集。用大约 400ml 的 DDGS 填充 500ml 圆柱状体进行结块 / 坍塌试验 (caking/collapse assay)。注意当填充该圆柱状体时避免 DDGS 的物理挤压 (pack)。在填充后, 将一个 4.4cm 直径的重 78 克的圆盘状物置于 DDGS 的顶端, 然后在圆盘状物的顶端放置 1.5kg 的铅粒 (在一个适当大小的塑料袋中)。用塑料袋覆盖各圆柱状体并用胶带密封该装置以防止水分损失而完成试验的准备工作。施加于 DDGS 的重量用于扩大该效应, 并模拟 DDGS 在铁路等运输期间所



暴露的条件。在 50°C 的温度下,在储存开始时和储存期间的不同时间记录 DDGS 的水平。将测量的坍塌的(结块的)DDGS 的高度与 DDGS 的初始高度相对比。将测量的高度与初始高度的比较作为此产品坍塌或结块倾向的估计。

#### [0247] 结果

[0248] 当与常规方法的 DDGS 相比时,随着时间,本发明的 DDGS 显示出较少的结块坍塌(图 13)。经过 25 个小时挤压时间,本发明的 DDGS 的坍塌仅为初始体积的 4-5%,而常规方法的 DDGS 为 10-14% 体积的坍塌。

#### [0249] 讨论

[0250] 在控制条件下进行的 DDGS 的压实模拟了在例如有轨机动车和卡车等运输工具的集装箱中观察到的 DDGS 的结块。应用本发明的方法生产的 DDGS 显示出比常规方法生产的 DDGS 具有较少的结块相关的坍塌,显示了本发明方法的优越性能。

[0251] 尽管不限制本发明,但认为观察到的压实与玻璃化转变理论所提示的是一致的。例如,玻璃化转变温度随着聚合物(如在 DDGS 中发现的聚合物)的分子量而升高。本发明 DDG 包括较高水平的这样的聚合物并应显示出更高的玻璃化转变温度。据认为,产品湿度、储存温度和化学组成能够影响 DDGS 从无定形的玻璃相到无定形橡胶相的转变,橡胶相的 DDGS 比玻璃相的 DDGS 更易压实。

[0252] 实施例 10- 本发明方法可以采用高蛋白玉米生产高蛋白 DDGS 和高水平的乙醇。

[0253] 在一种具体实施方式中,本发明可以包括使高蛋白玉米发酵生产高蛋白 DDGS 和高水平的乙醇。这对加工高蛋白玉米提供了有利的灵活性。

#### [0254] 材料和方法

[0255] 应用与实施例 1 类似的方式建立发酵以从不同的玉米杂种发酵生产乙醇,收集作为联产品的 DDGS。运用相同条件建立所有发酵。采用实验室规模的锤磨机以不同的粉碎度测试了不同的玉米杂种。该锤磨机筛孔尺寸在 0.5mm 到 4.0mm 之间变动,产生从精细(0.5mm 筛孔)到粗粒的(4.0mm 筛孔)的面粉颗粒大小。

#### [0256] 结果

[0257] 图 15A 说明了 DDGS 的蛋白水平取决于粉碎度。该图说明粉碎度和蛋白质之间负相关:随着颗粒大小的增加,每种测试的玉米杂种的 DDGS 的蛋白含量降低(图 15A)。图 15B 说明了 DDGS 的淀粉水平取决于粉碎度,该图说明粉碎度和淀粉含量之间正相关:随着颗粒大小的增加,每种测试的玉米杂种的 DDGS 的淀粉含量也增加(图 15B)。图 15C 说明乙醇产量取决于粉碎度,该图说明随着颗粒大小的降低,乙醇产量增加(图 15C)。

#### [0258] 讨论

[0259] 由玉米的研磨产生的降低的粒度使得能够产生更高的乙醇产量和更高的蛋白 DDGS。在玉米的初始蛋白含量和产生的 DDGS 的蛋白含量之间也观察到了强相关性。在常规方法中,较高蛋白质的玉米是不合乎需要的,因为它降低了可发酵的淀粉含量。该常规方法更加受到由于液化作用造成的粘度的限制,从而限制了处理者通过增加发酵中固形物的水平而维持可发酵物的能力。本发明方法较少受到粘度的限制,因此能够增加可发酵固体以维持潜在的乙醇生产滴度,并同时生产更高蛋白的 DDGS。更高蛋白 DDGS 可以用于各种各样的目的。

[0260] 应当注意到现代工业作出了显著的努力以鼓励“高度可发酵玉米”杂种的应用。

“高度可发酵玉米”杂种可具有更高的淀粉浓度，而不具有高蛋白浓度。本实施例表明可采用更高蛋白质的标准 #2 黄色玉米的杂种品种获得高水平的乙醇产量。尽管标准 #2 黄色玉米具有较低的淀粉含量，但可以增加发酵罐干固形物以维持发酵罐内的乙醇%水平，同时生产更高蛋白 DDGS。

[0261] 实施例 11- 本发明生淀粉工艺能产生具有创造性特点的联产品

[0262] 在一个实施方案中，本发明提高了对粮谷中谷醇溶蛋白（如玉米醇溶蛋白）级分的获取。DDG 和 DDGS 的高蛋白质含量在配合中是有用的。

[0263] 结果和讨论

[0264] 这产生了具有不同比率的谷醇溶蛋白（如玉米醇溶蛋白）和残留淀粉的 DDG/DDGS。图 14A 和 14B 显示湿饼、糖浆的淀粉和蛋白质水平的关系。当湿饼中残留淀粉减少，湿饼中蛋白质就增加。这指示一种反向关系。类似的效应发生在糖浆级分中。

[0265] 需要注意的是，如在说明书和后附的权利要求中所使用的，除非另有明确规定，单数形式“一”、“一个”和“这个”包含复数对象。因此，例如，涉及包含“一种化合物”的组合物包括两种或更多种化合物的混合物。还需要注意的是除非另有明确规定，术语“或者”通常使用其包括“和 / 或”的意思。

[0266] 说明书中所有的出版物和专利申请显示了本发明所属领域中普通技术人员的水平。

[0267] 本发明参照各种具体的和优选的实施方案和技术进行了描述。然而，应理解的是在仍属于本发明的精神和范围内可作许多改变和改进。

[0268] 1. 一种从植物材料生产乙醇的方法，包括：将植物材料粉碎以产生包含淀粉的材料；

[0269] 粉碎的植物材料具有使至少约 50% 的颗粒大小合适通过具有 0.1-0.5mm 网孔的筛子的粒径；

[0270] 用酶组合物不经蒸煮而糖化该淀粉；

[0271] 发酵该经孵育的淀粉以产生包含至少 15 体积%乙醇的组合物；

[0272] 发酵包括降低发酵混合物的温度；以及从发酵物回收乙醇和联产品。

[0273] 2. 项目 1 的方法，其中植物材料包括玉米，其含有高的支链淀粉。

[0274] 3. 项目 1 的方法，其中植物材料包括玉米、高粱、黍、小麦、大麦、黑麦或其混合物。

[0275] 4. 项目 3 的方法，其中玉米包括蜡质种玉米。

[0276] 5. 项目 3 的方法，其中玉米包括高蛋白玉米。

[0277] 6. 项目 3 的方法，其中玉米包括 #2 黄色马齿种玉米。

[0278] 7. 项目 1 的方法，包括用锤磨机、轧制机或锤磨机和轧制机使植物材料粉碎。

[0279] 8. 项目 7 的方法，包括使植物材料粉碎以产生具有至少 35% 的粉碎的植物材料大小合适通过 0.1-0.5mm 筛孔的大小的植物材料。

[0280] 9. 项目 1 的方法，包括用粒度减小乳化技术使植物材料粉碎。

[0281] 10. 项目 1 的方法，包括同时糖化和发酵。

[0282] 11. 项目 1 的方法，包括在糖化、发酵或同时糖化和发酵期间降低温度。

[0283] 12. 项目 1 的方法，包括在 25-40℃ 的温度下糖化、发酵或同时糖化和发酵。

[0284] 13. 项目 1 的方法，包括在 27-35℃ 的温度下糖化、发酵或同时糖化和发酵。

- [0285] 14. 项目 1 的方法,包括糖化、发酵或同时糖化和发酵期间将温度从约 40℃降至约 25℃。
- [0286] 15. 项目 1 的方法,包括在约 3.0 至约 6.0 的 pH 下糖化、发酵或同时糖化和发酵。
- [0287] 16. 项目 1 的方法,包括在约 4.1 至约 5.3 的 pH 下糖化、发酵或同时糖化和发酵。
- [0288] 17. 项目 1 的方法,包括发酵充填起始时 pH 约 4 至约 4.5。
- [0289] 18. 项目 1 的方法,包括当乙醇产量达到最大水平时 pH 约 5 至约 5.5。
- [0290] 19. 项目 1 的方法,包括糖化、发酵或同时糖化和发酵期间将 pH 从约 4 提高至约 5.3。
- [0291] 20. 项目 1 的方法,包括糖化、发酵或同时糖化和发酵期间将固形物含量从约 40%降低到约 15%。
- [0292] 21. 项目 1 的方法,其中酶组合物包括  $\alpha$  淀粉酶、葡糖淀粉酶、蛋白酶或其混合物。
- [0293] 22. 项目 1 的方法,其中糖化、发酵或同时糖化和发酵包括添加蛋白酶。
- [0294] 23. 项目 1 的方法,其中糖化、发酵或同时糖化和发酵包括添加回糟。
- [0295] 24. 项目 1 的方法,其中糖化、发酵或同时糖化和发酵包括添加氮。
- [0296] 25. 项目 1 的方法,包括以维持发酵物中葡萄糖浓度小于 3wt% 的速率糖化和发酵。
- [0297] 26. 项目 1 的方法,包括使用约 0.1 至约 10 酸性真菌淀粉酶单位 (AFAU) 每克干固形粉碎的植物材料以及约 0.1 至约 6 葡糖淀粉酶单位 (AGU) 每克干固形粉碎的植物材料糖化、发酵或同时糖化和发酵。
- [0298] 27. 项目 1 的方法,包括以水中约 25 至约 45wt% 粉碎的植物材料起始糖化、发酵或同时糖化和发酵。
- [0299] 28. 项目 1 的方法,包括以最多 20% 残留的淀粉起始糖化、发酵或同时糖化和发酵。
- [0300] 29. 项目 1 的方法,包括在约 48 至 96 小时内产生大于 18 体积%的乙醇。
- [0301] 30. 项目 1 的方法,包括产生 18 体积%至约 23 体积%的乙醇。
- [0302] 31. 项目 1 的方法,进一步包括从发酵物中回收固形物。
- [0303] 32. 项目 31 的方法,回收在回收乙醇之前、期间以及之后进行。
- [0304] 33. 项目 31 的方法,包括回收干酒糟。
- [0305] 34. 项目 31 的方法,其中干酒糟包含约 30-38wt% 的蛋白质、约 11-19wt% 的脂肪、约 25-37wt% 的纤维。
- [0306] 35. 项目 31 的方法,其中干酒糟包含至少约 30% 的蛋白质。
- [0307] 36. 项目 1 的方法,包括以分批法或连续法执行该方法。
- [0308] 37. 一种干燥乙醇生产中蒸馏产物的方法,包括:
- [0309] 从玉米生产淀粉以及从淀粉生产乙醇;
- [0310] 每吨玉米产生 1.47 磅或更少挥发性有机物的减少的烟囱排放。
- [0311] 38. 项目 37 的方法,每吨加工的玉米进一步产生 0.98 磅或更少一氧化碳的减少的烟囱排放。
- [0312] 39. 一种从植物材料生产乙醇的方法,包括:
- [0313] 使植物材料粉碎以产生包含淀粉的材料;

- [0314] 用包含酸性真菌淀粉酶的酶组合物不经蒸煮而糖化该淀粉；
- [0315] 发酵该经孵育的淀粉以产生包含至少约 18 体积%乙醇的组合物；
- [0316] 从发酵物回收乙醇。
- [0317] 40. 包含至少约 30wt%蛋白质的干酒糟。
- [0318] 41. 包含约 30-38wt%蛋白质、约 11-19wt%脂肪、约 25-37wt%纤维的干酒糟。
- [0319] 42. 包含至少约 18%乙醇的玉米发酵醪。

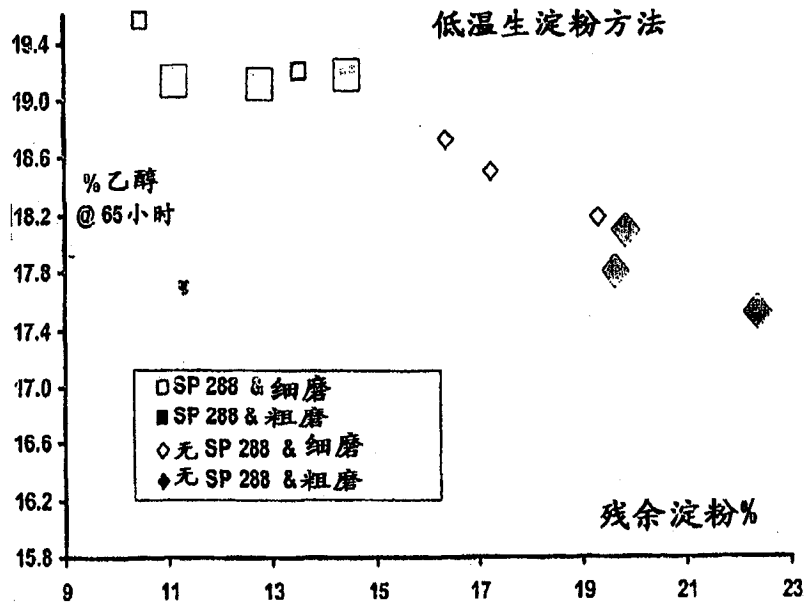


图 1A

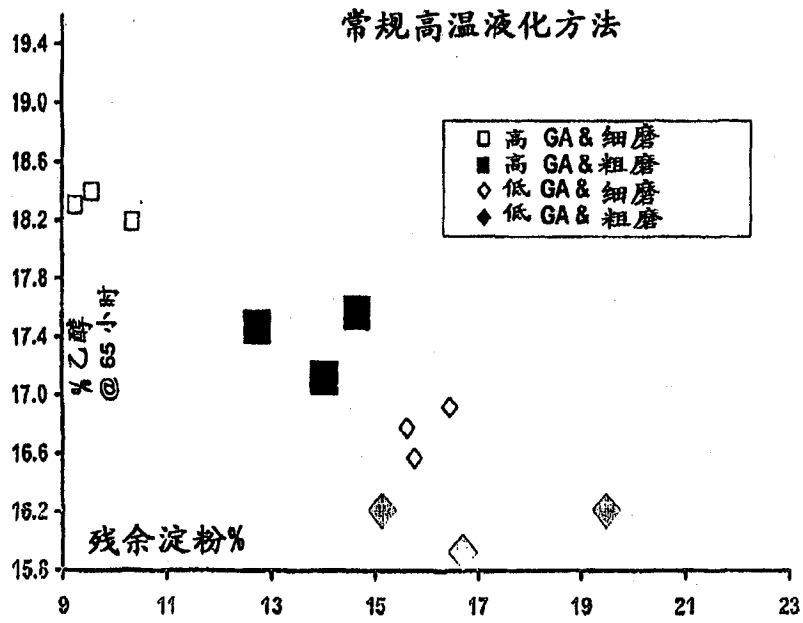


图 1B

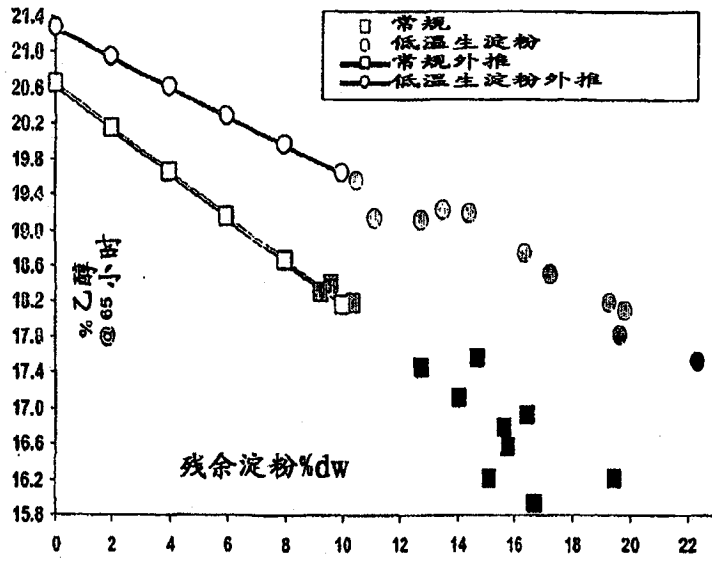


图 1C

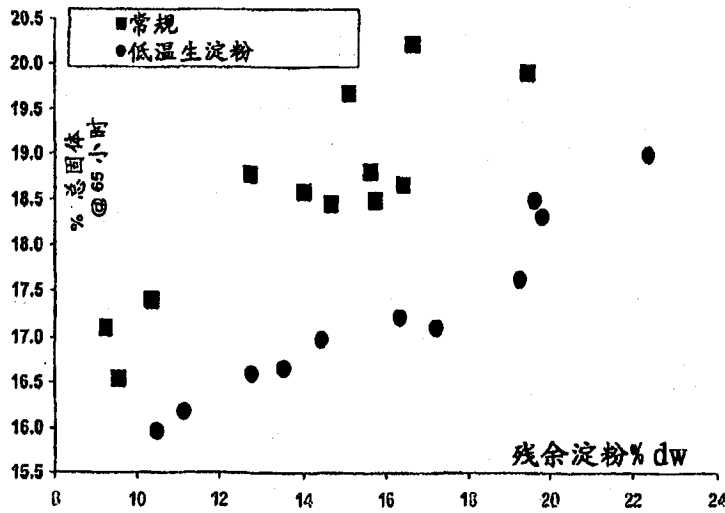


图 1D

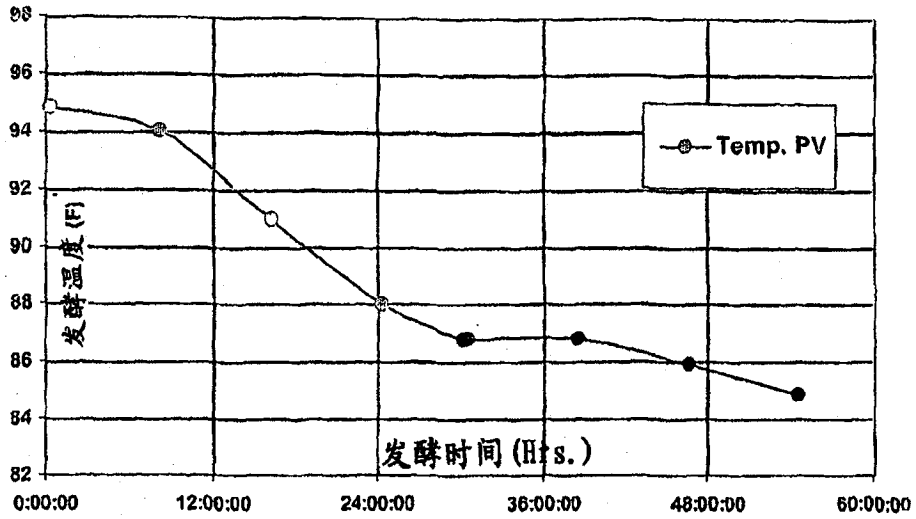


图 1E

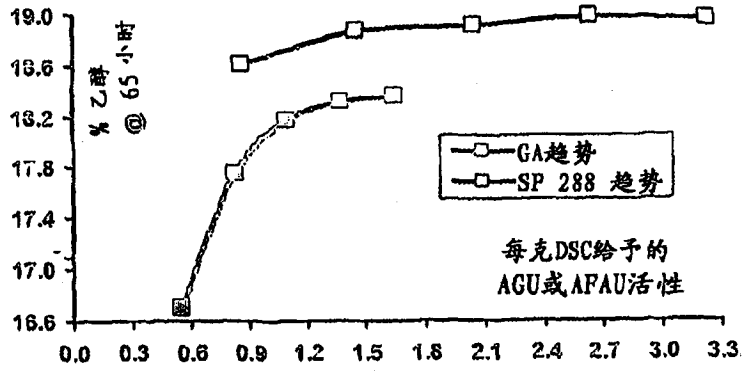


图 2A

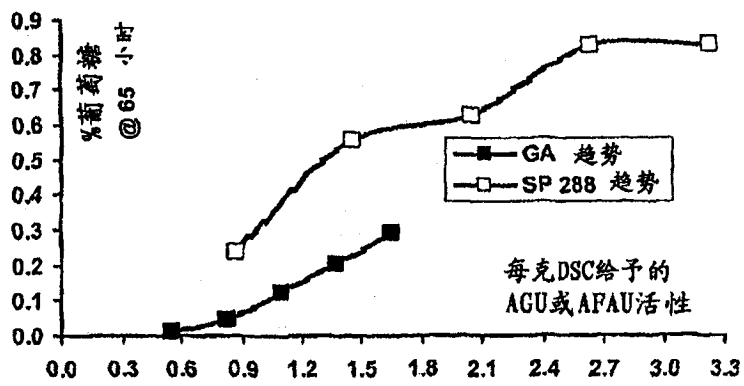


图 2B

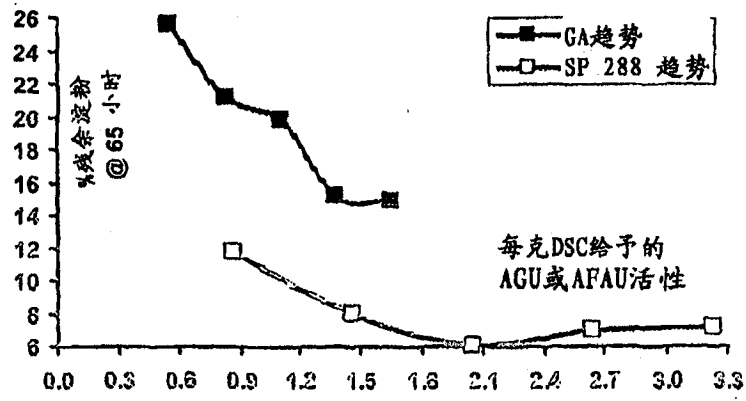


图 2C

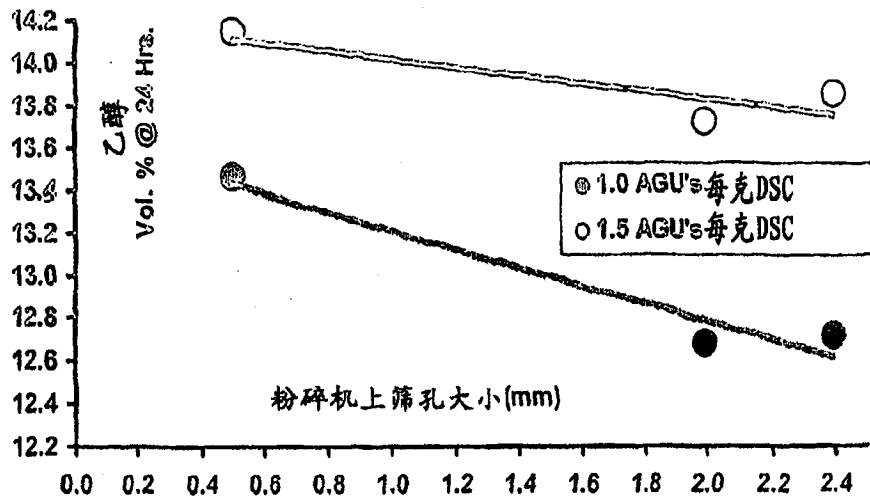


图 3A



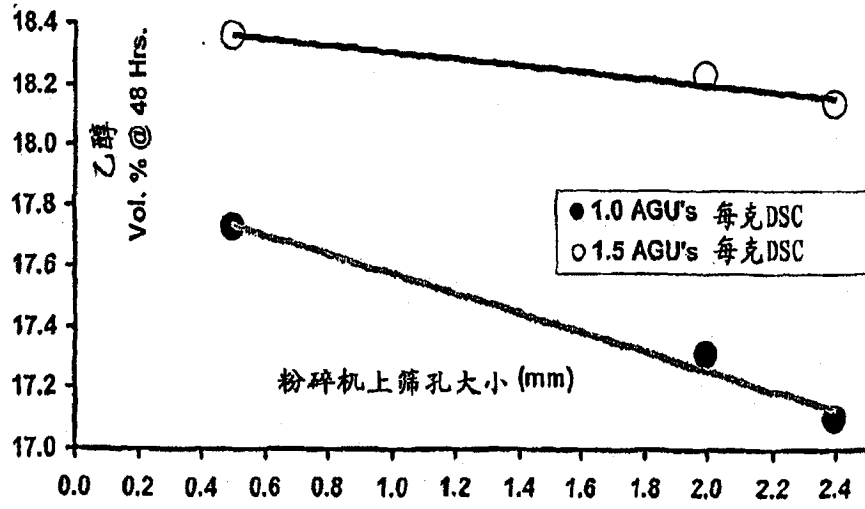


图 3B

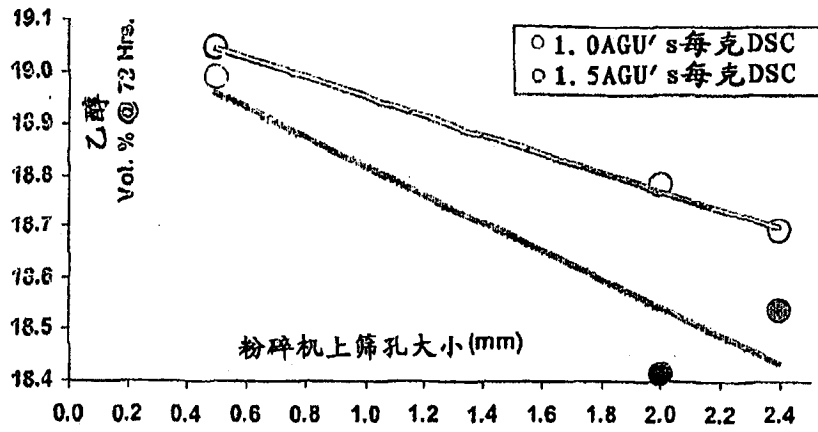


图 3C

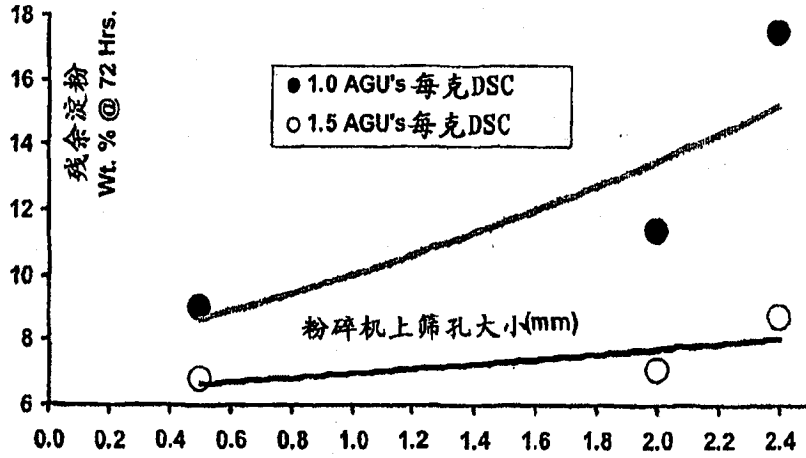


图 3D

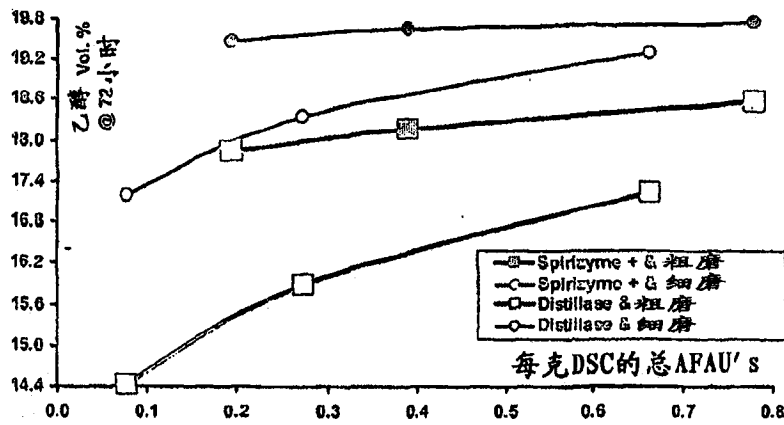


图 4A

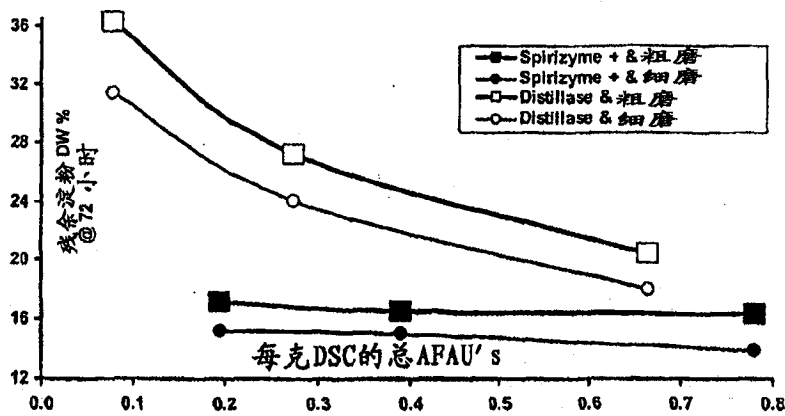


图 4B

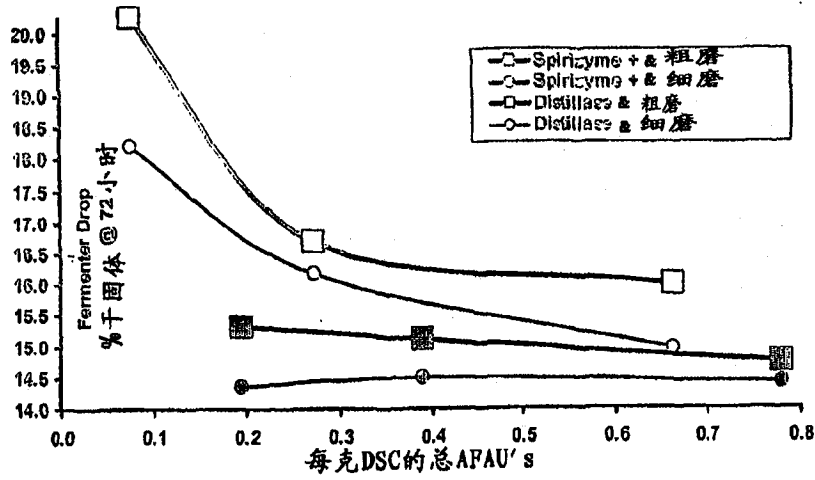


图 4C

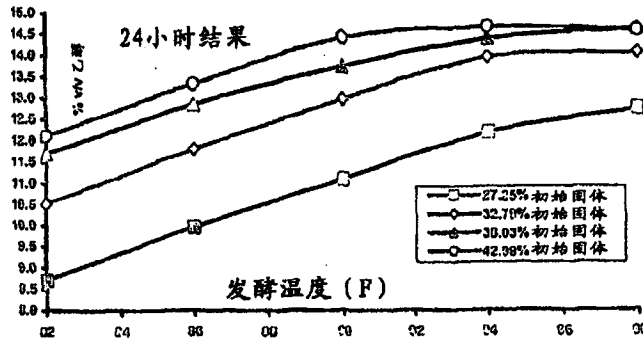


图 5A

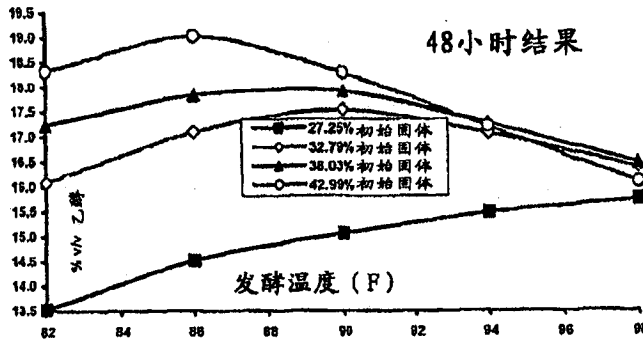


图 5B

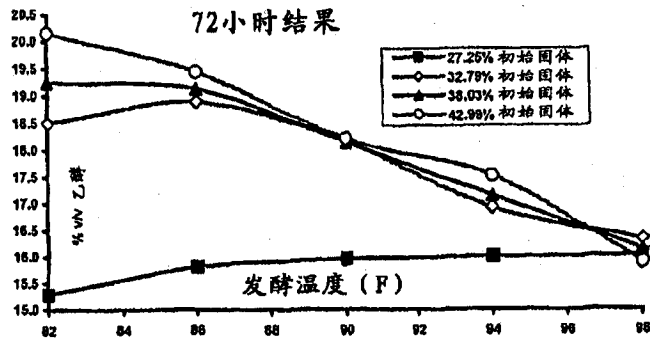


图 5C

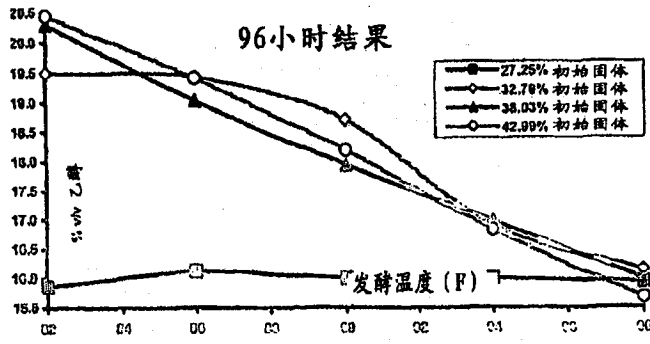


图 5D

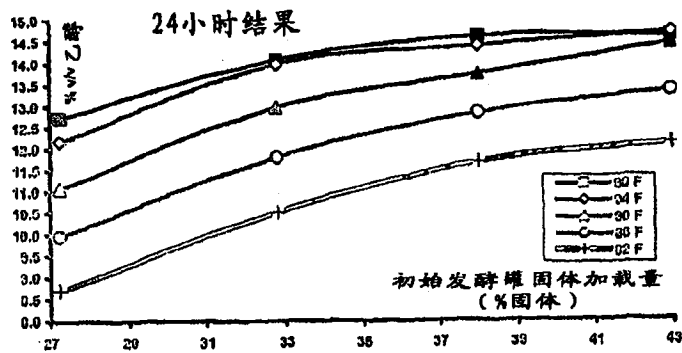


图 5E

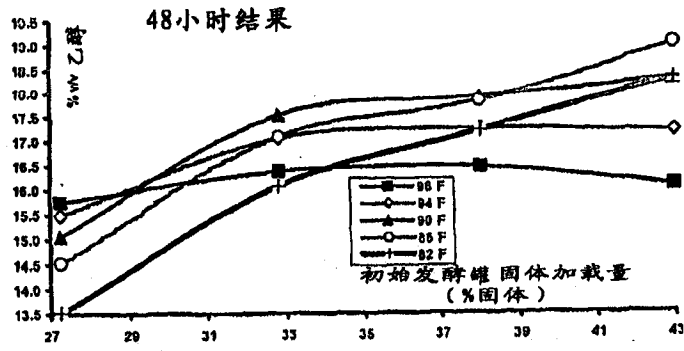


图 5F

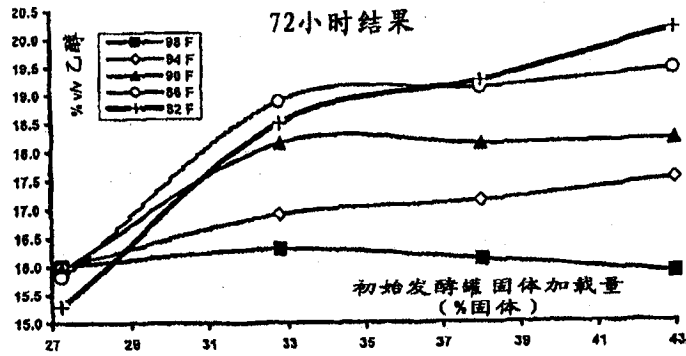


图 5G

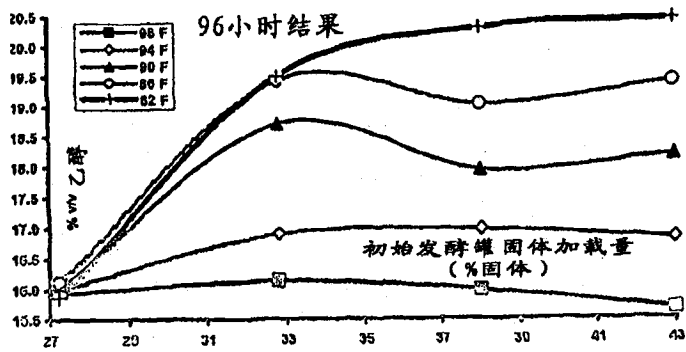


图 5H

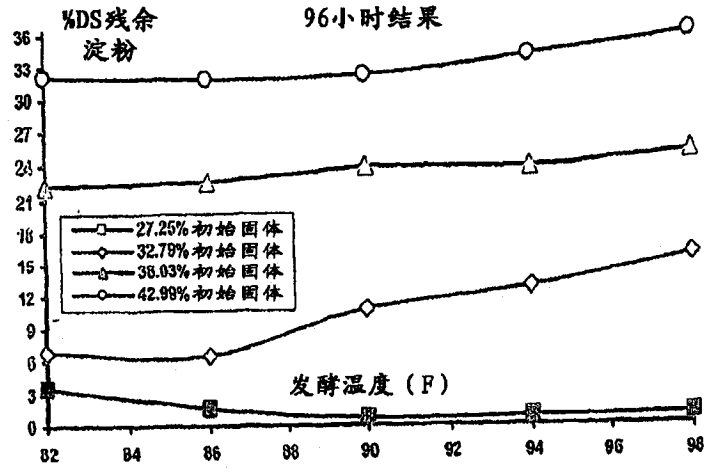


图 5I

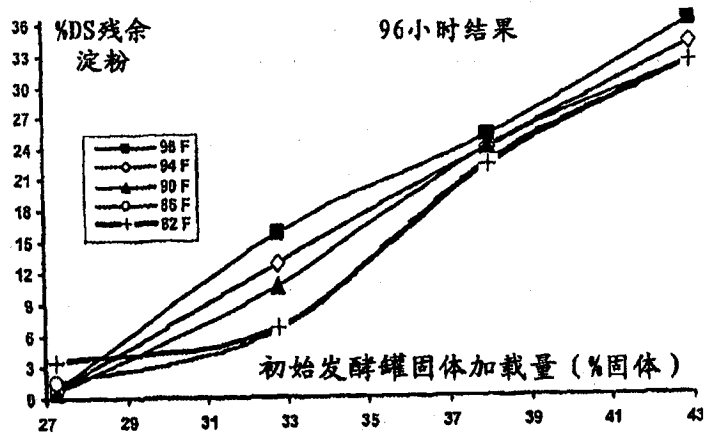


图 5J

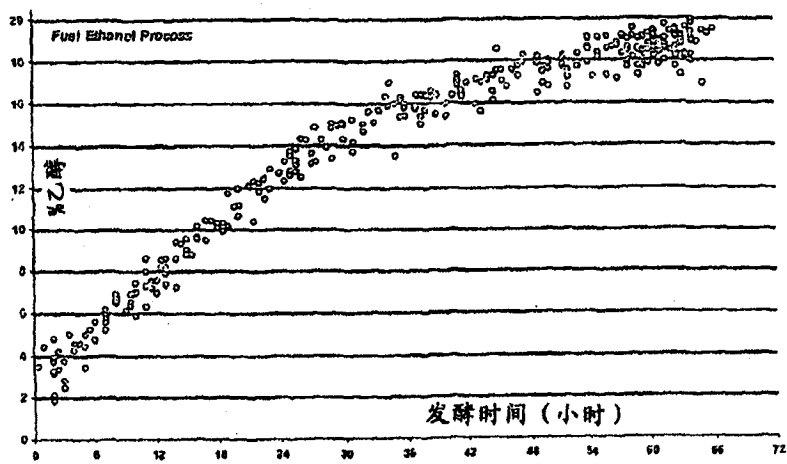


图 6A

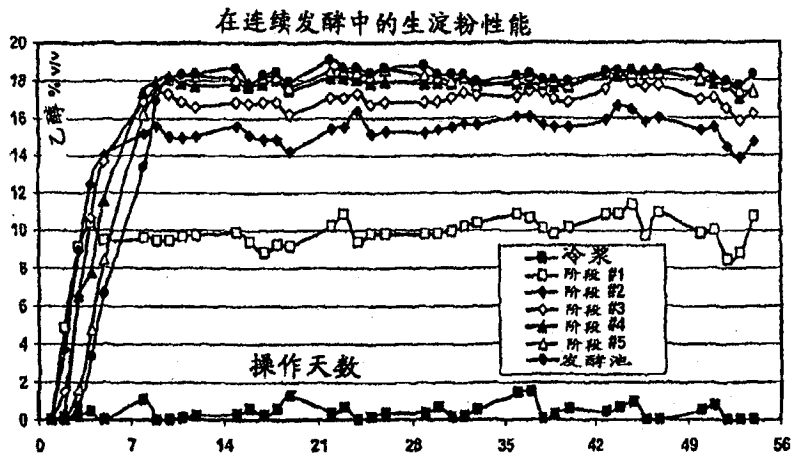


图 6B

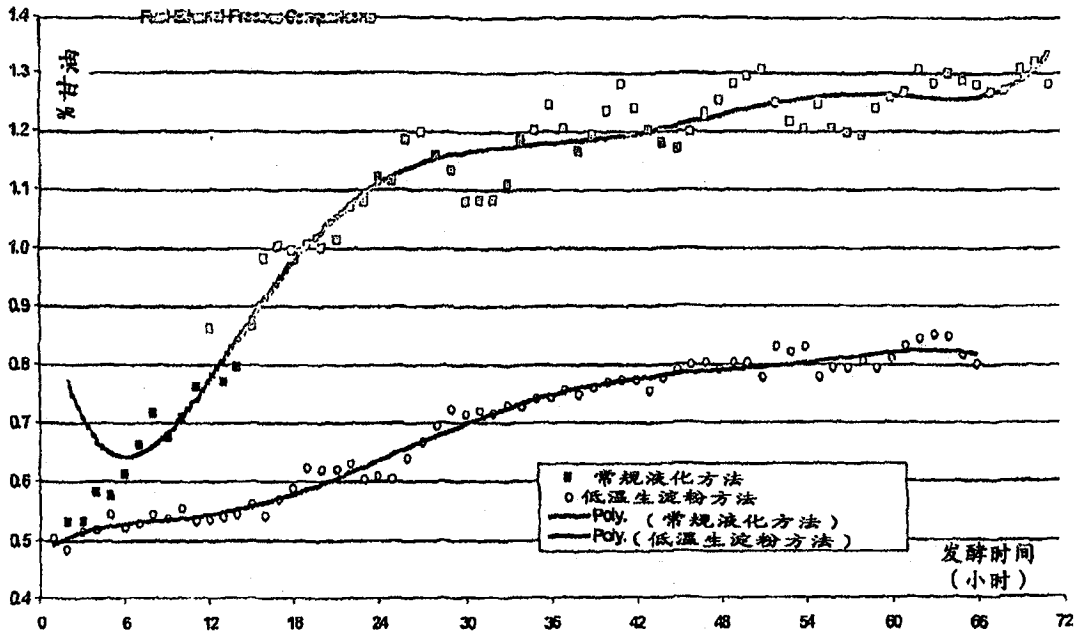


图 7

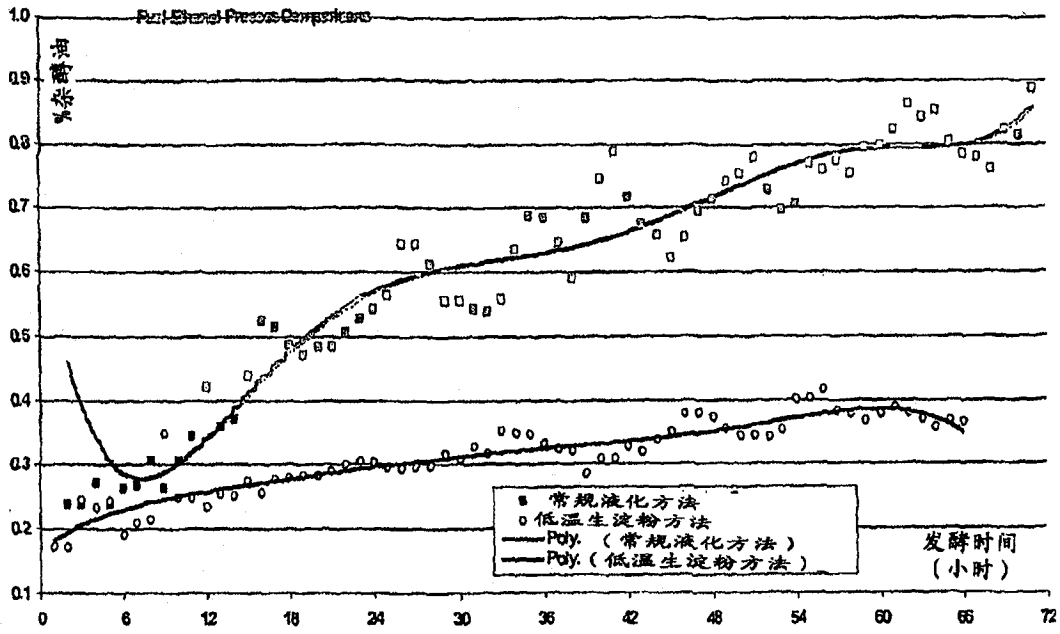


图 8

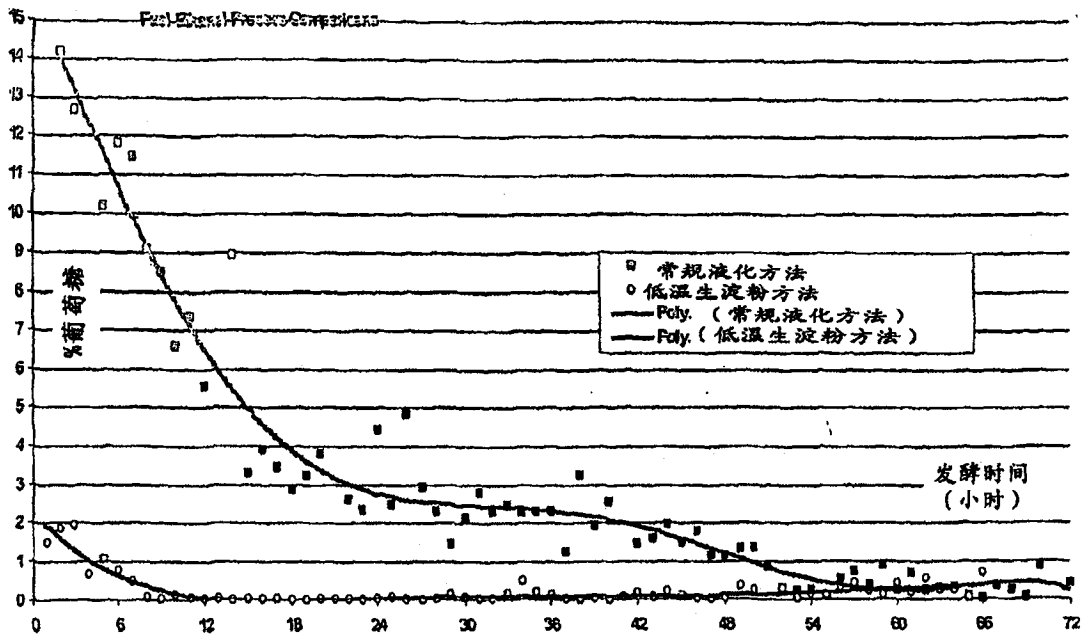


图 9A



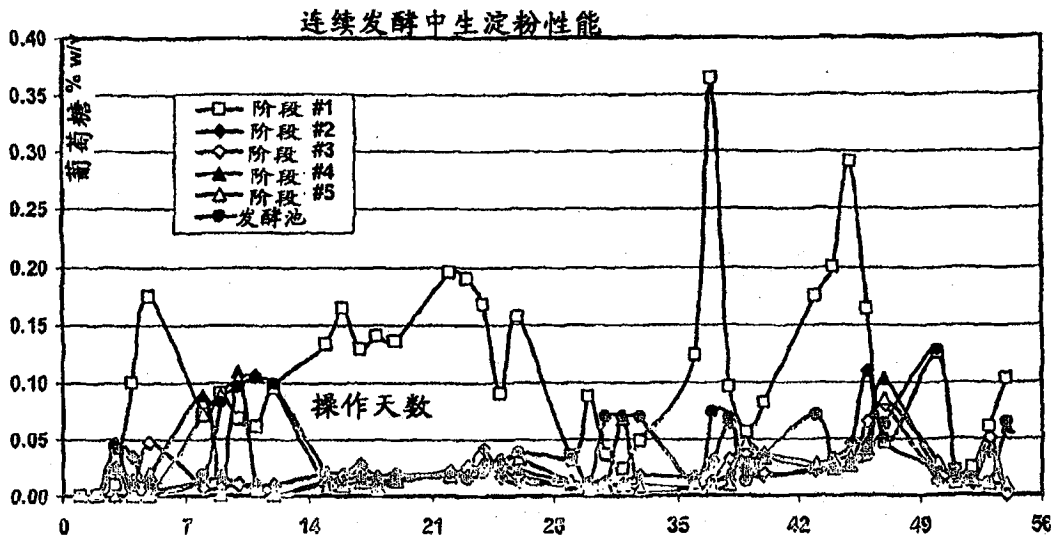


图 9B

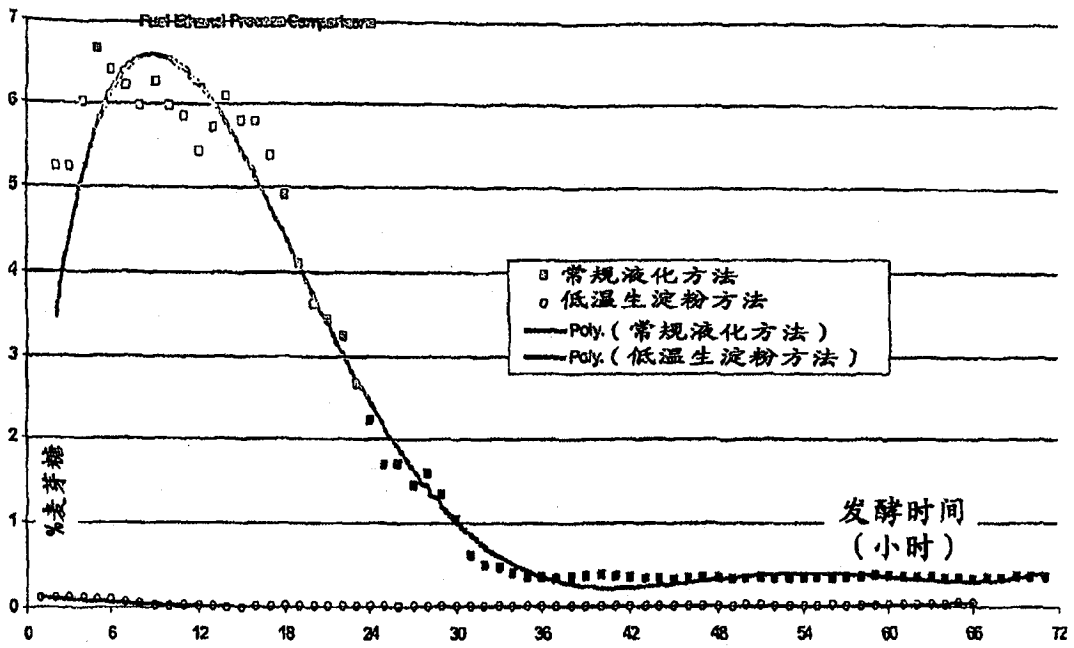


图 10A

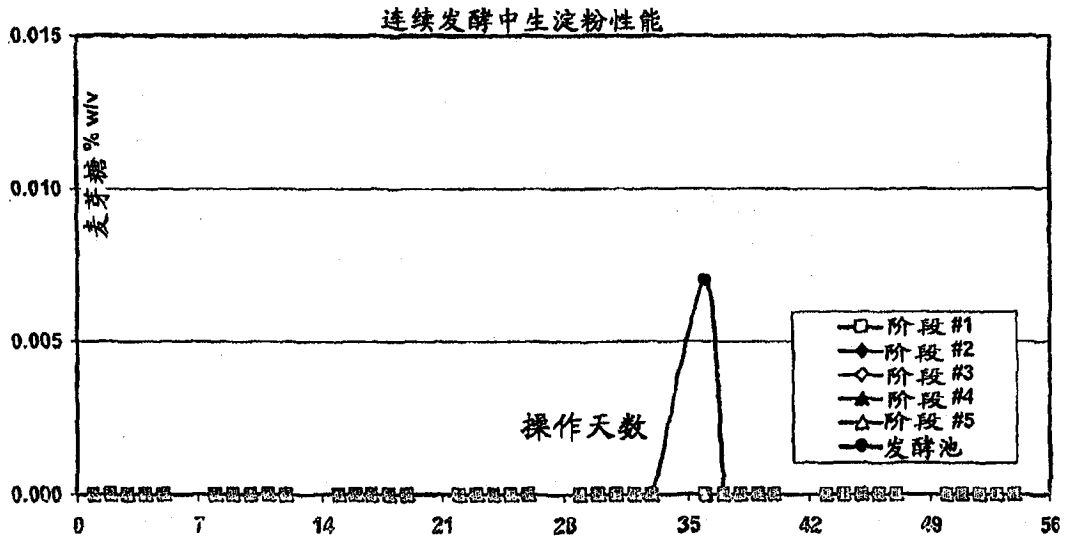


图 10B

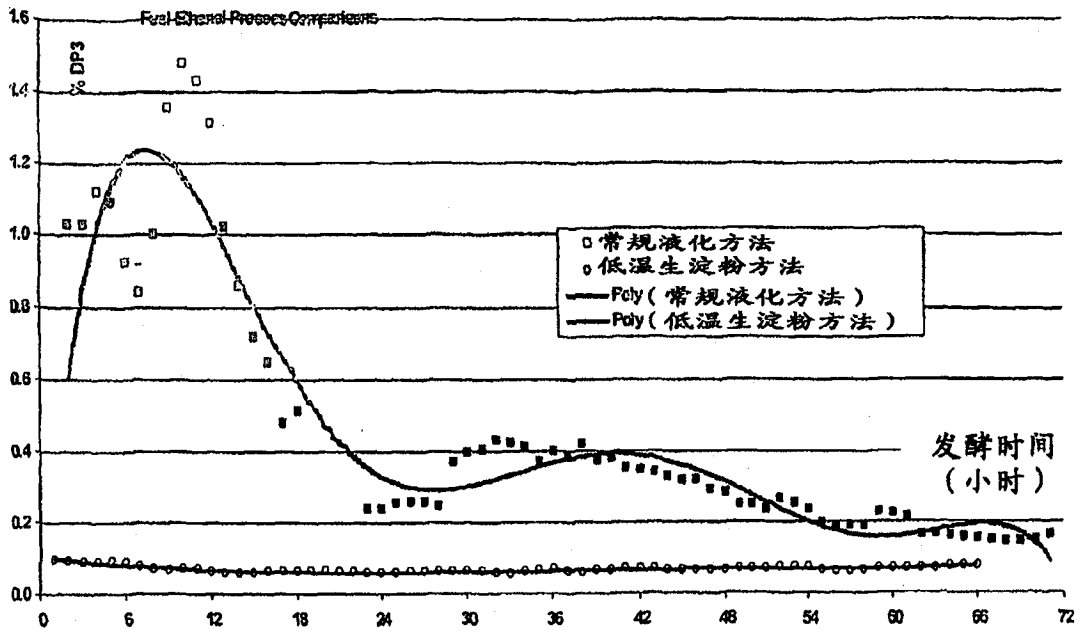


图 11A

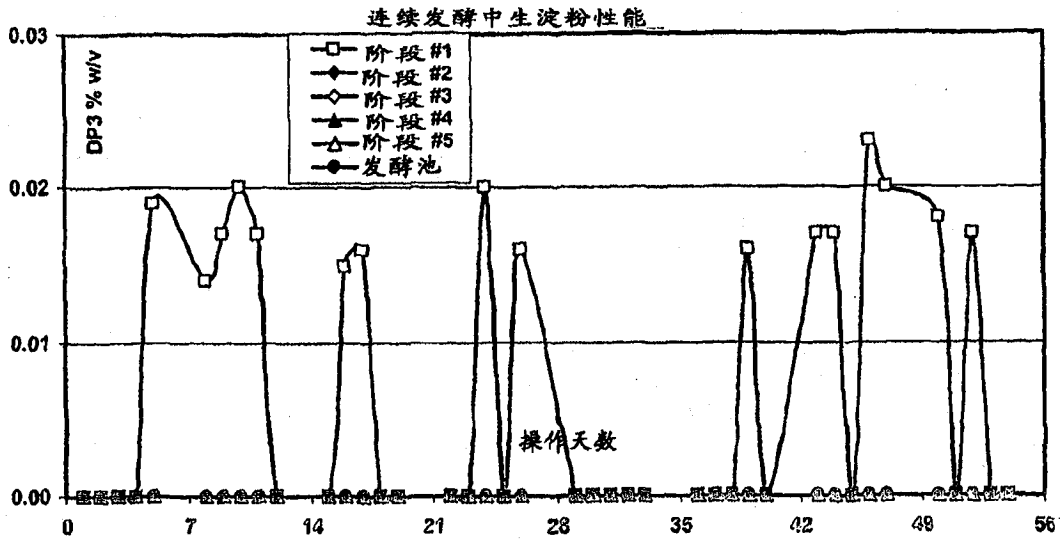


图 11B

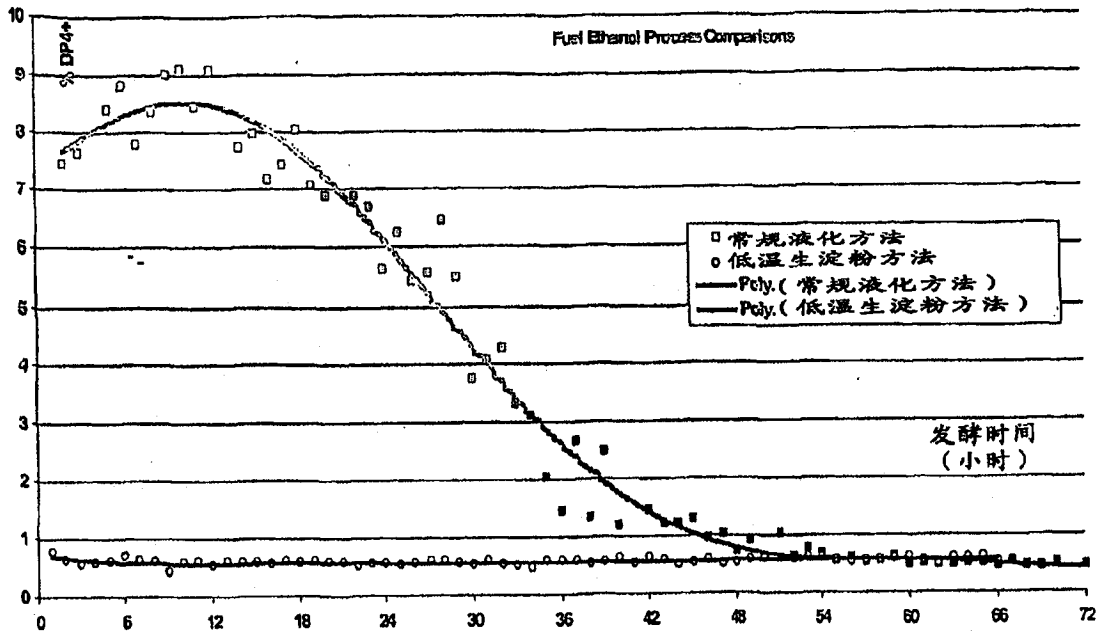


图 12A

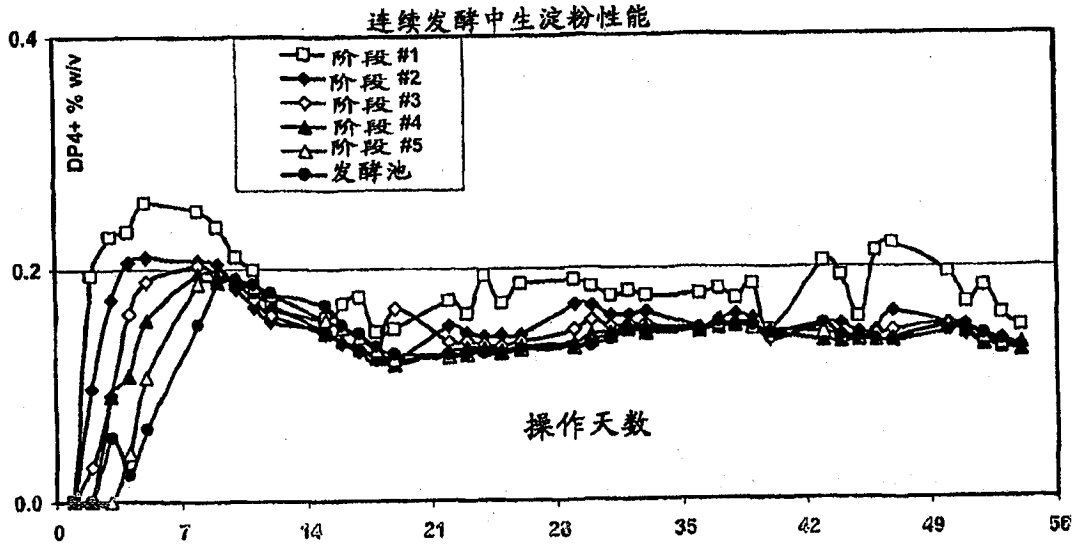


图 12B

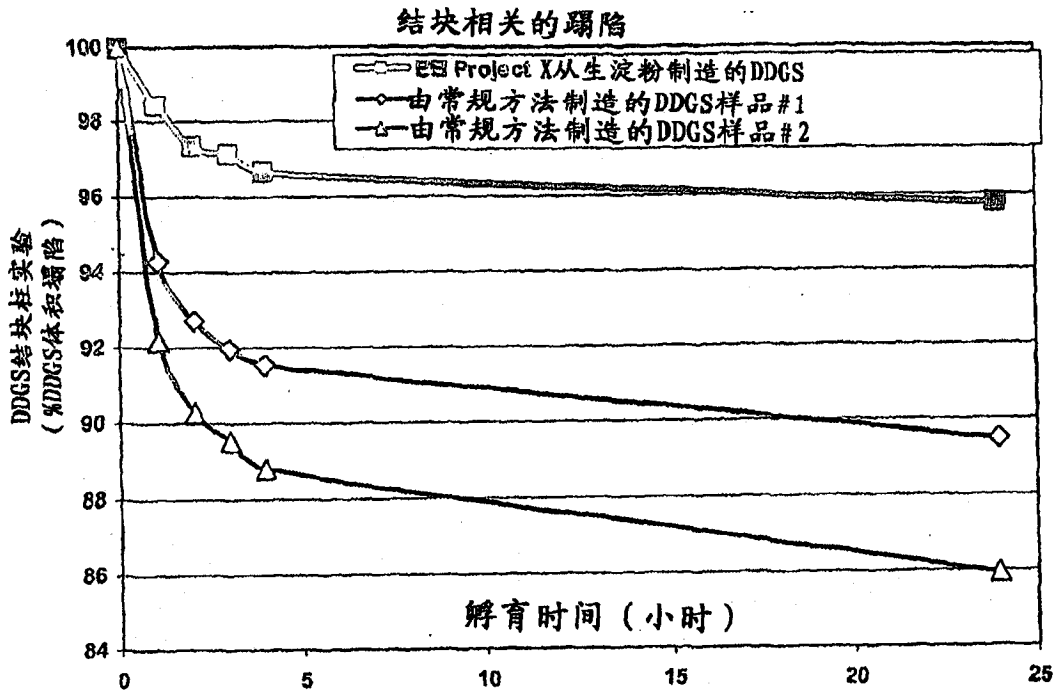


图 13

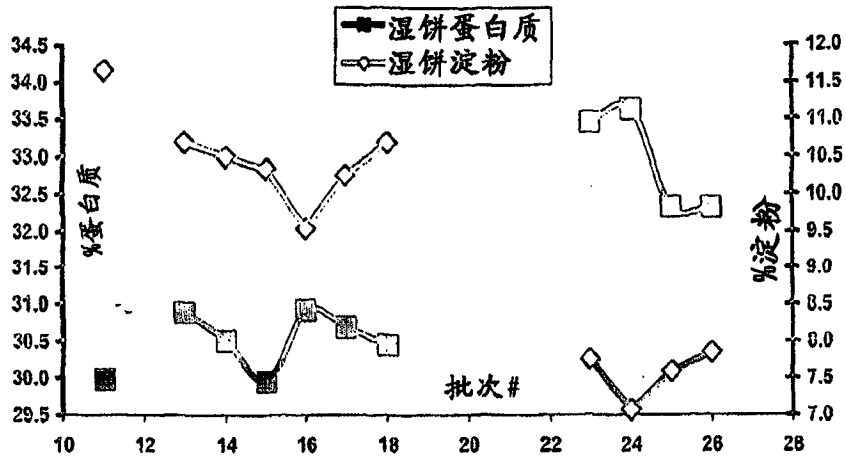


图 14A

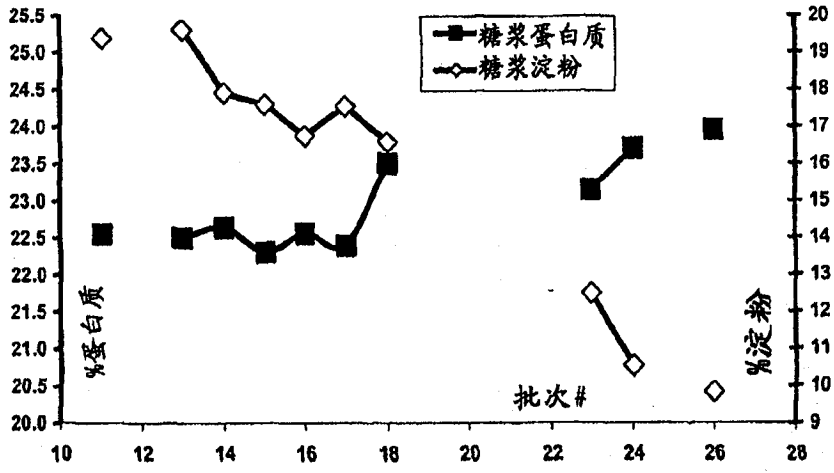


图 14B

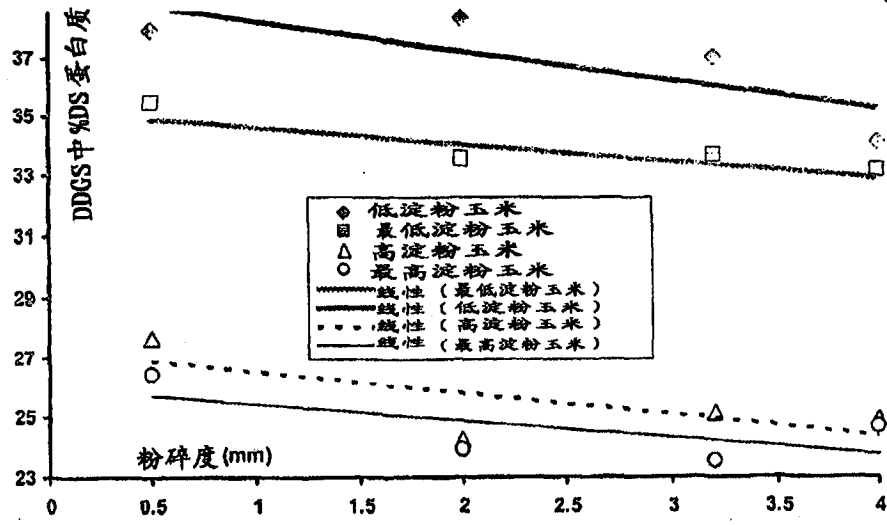


图 15A

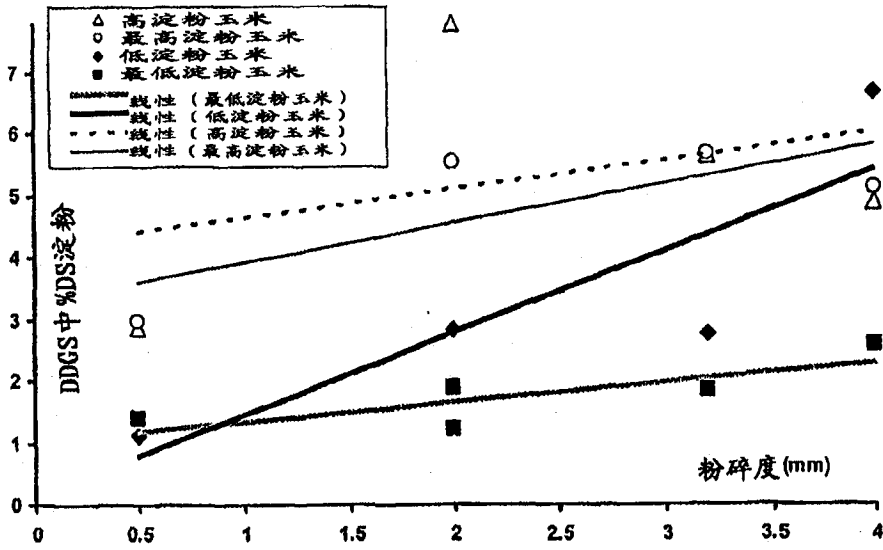


图 15B

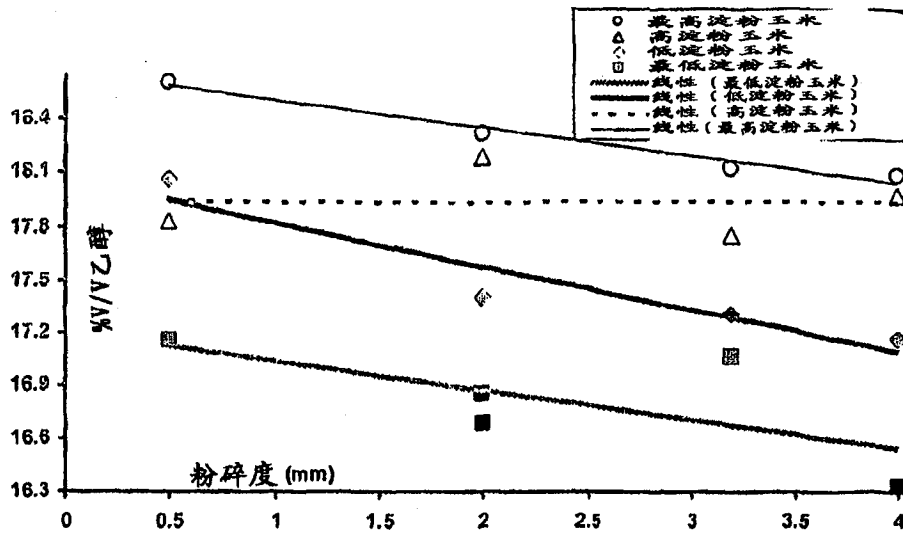


图 15C

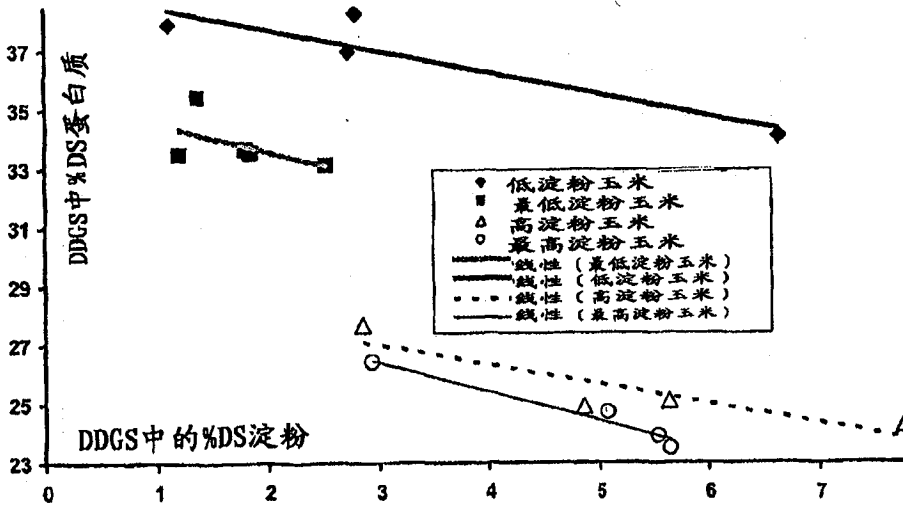


图 15D

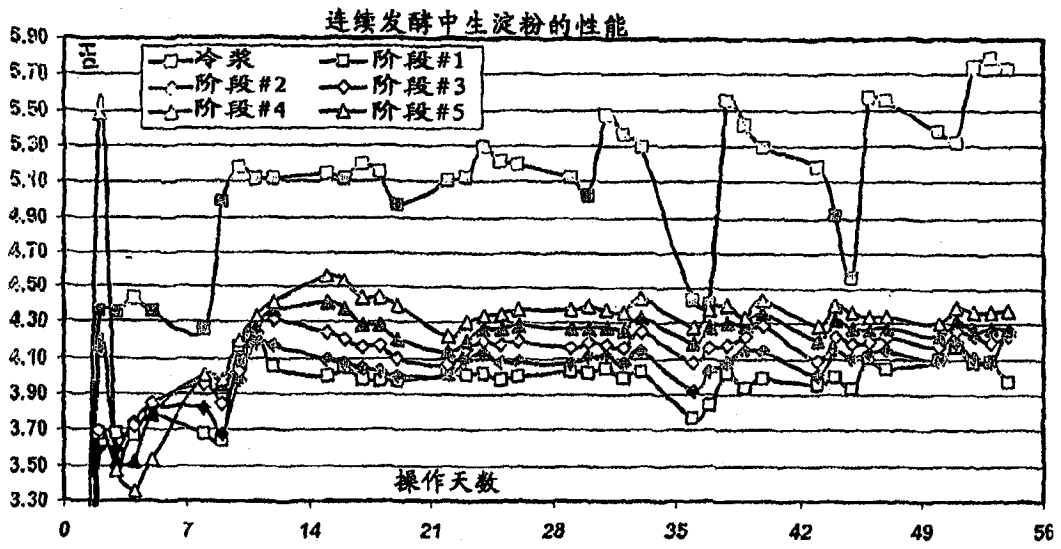


图 16A

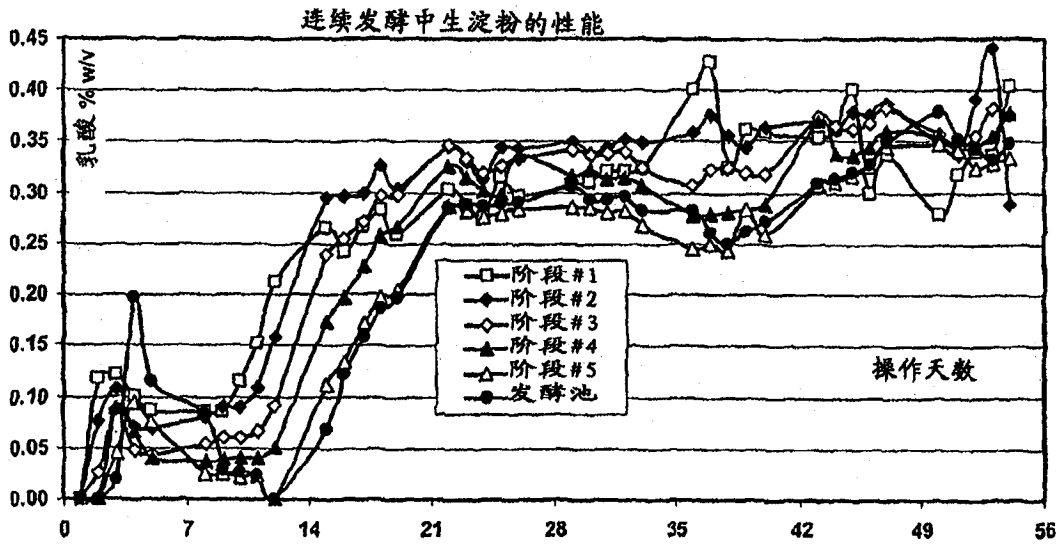


图 16B



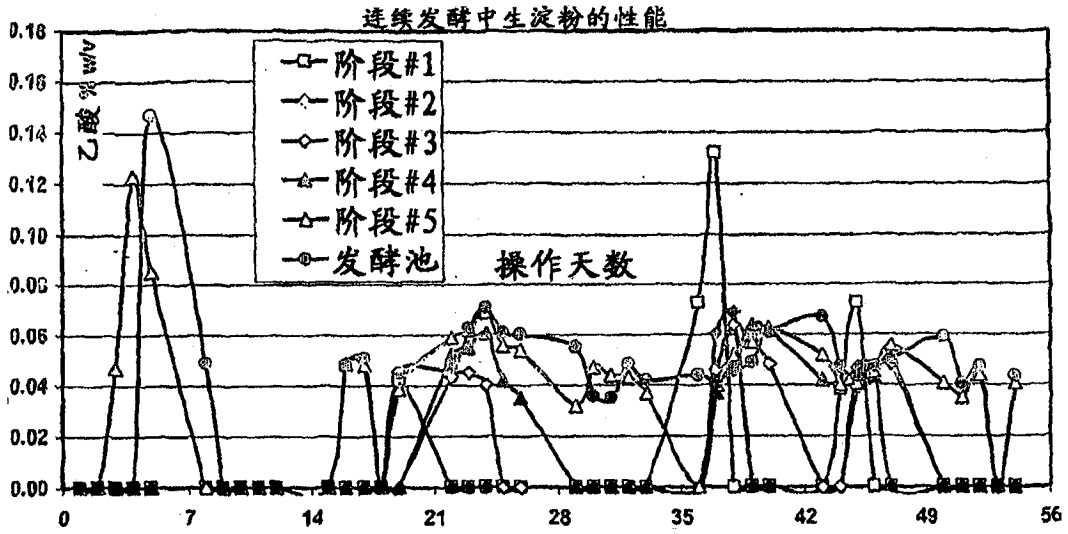


图 16C

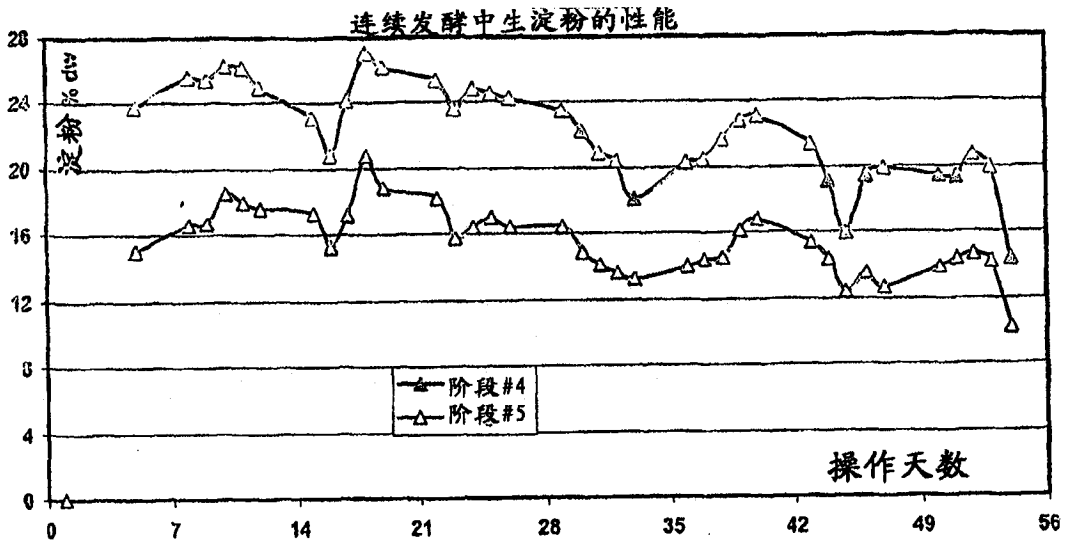


图 17